G III 5

ETUDES DE VIROLOGIE APPLIQUEE

N° 2 - Mars 1961.

S O M M A I R E

- Isolement et propriétés du virus du type "RINGSPOT" de la maladie de Pfeffingen du Cerisier ..... A. VUITTENEZ p. 1

- Propriétés d'une souche du virus de la Maladie de la Luzerne (Marmor Medicaginis Holmes) isolée en Alsace ..... A. VUITTENEZ et J. KUSSALA p. 11

- Etude en serre d'un inhibiteur de la Mosaïque du Tabac ..... C.M. MESSIAEN, M. ARNOUX et P. MAISON p. 23

- Usage de l'inhibiteur au champ sur Tomates. Baisses de rendement provoquées par la Mosaïque du Tabac. ..... C.M. MESSIAEN, M. ARNOUX et P. MAISON p. 26

- Une maladie de l'Ail probablement due à un virus ; son influence sur le rendement. ..... C.M. MESSIAEN, M. ARNOUX et P. MAISON p. 29

- Cause des rechutes de la Flavescence Dorée de la Vigne ..... A. CAUDWELL p. 33

- Essais d'extraction du virus de la Flavescence Dorée ..... A. CAUDWELL et N. POITOU p. 45

- Recherches sur la transmission du virus de la Mosaïque du Tabac par les semences de Tomate : vérification de cette transmission et localisation du virus dans la graine..... M.T. COUSIN p. 49

- Transmission du virus de l'Enroulement de la Pomme de Terre par "Electro-inoculation". ..... P. CORNUET, D. SPIRE et J. QUEMENER p. 57

- Le Trêfle violet, réservoir de plusieurs virus. ..... J.C. DEVERGNE p. 61

- Propriétés et isolement du virus de la Tache jaune du Cresson (Nasturtium officinale R. BR)..... D. SPIRE p. 67

- Rôle des traitements aphicides dans la lutte contre la Mosaïque de la Laitue en culture maraîchère..... J. MARROU p. 71

- Action de deux virus apparentés au virus I du Concombre sur un certain nombre d'hôtes caractéristiques ..... D. SPIRE p. 79

- Observations faites dans la région de Morlaix sur une maladie à virus des Choux-fleurs..... D. SPIRE p. 83

- Le controle de l'état sanitaire des plants et greffons ..... P. CORNUET p. 87

ISOLEMENT ET PROPRIETES DU VIRUS DE TYPE "RINGSPOT" DE LA MALADIE DE PFEFFINGEN DU CERISIER.

- par A. VUITTENEZ -

Parmi les viroses du Cerisier, les maladies appelées selon les régions maladie de "Pfeffingen" (Suisse et Allemagne), d'Eckelrade (Pays-Bas), de Stecklenberg (Allemagne de l'Est), Raspleaf (Grande Bretagne et Etats Unis), produisent chez le Cerisier un ensemble de symptômes assez comparable: rabougrissement en "rosette" des jeunes rameaux, feuilles de taille réduite, fortement dentées, rugueuses et portant souvent à leur face inférieure de petites intumescences internervaires caractéristiques connues sous le nom d'"énations".

A partir d'extraits de jeunes organes de Cerisiers présentant ces symptômes (fig. 1) l'inoculation mécanique de plantes tests herbacées permet dans certaines conditions, l'isolement de virus de type "Ringspot".(+)

En 1960 des essais de transmission mécanique à partir de feuilles de Cerisier prélevées dans un petit foyer de maladie de Pfeffingen (KEMBS-SCHAEFERHOF, Haut-Rhin) dont nous avions signalé la présence en 1955 (1), ont permis d'isoler une souche du virus.

Nous indiquerons ici le mode d'obtention du virus à partir du Cerisier, les symptômes qu'il produit chez différentes plantes tests inoculées mécaniquement, ses propriétés physiques in vitro; enfin son mode de purification et son aspect au microscope électronique.

I. Isolement du virus.

De jeunes feuilles de Cerisier (1o g.) prélevées au début de mai sur un arbre ayant présenté des symptômes caractéristiques depuis plusieurs années, ont été traitées selon la méthode de CORNUET et MORAND (2).

---

(1)-VUITTENEZ (A.) Ma maladie de Pfeffingen du Cerisier.
Bulletin technique d'information des Ingénieurs des Services agricoles - n° 1o5, octobre 1955.

(2)-CORNUET (P.) et MORAND (J.C.)
C.R.Acad.Sciences - PARIS, p. 1593-1584 - 196o.

(+) Travaux en Europe voir: BLUMER- MULDER, Melle PFAELTZER- KUNZE Mme NAUMAN-BAUMAN et KLINKOWSKI, KEGLER, SCHUCH & MISCHKE, CADMAN et CROPLEY.
Aux Etats-Unis: MOORE, MILBRATH, FULTON, NYALD.

Résumé de la préparation de l'inoculum:

- broyage au sein d'une solution de sulfate d'ammonium au 1/5 de saturation, ajusté à pH 7,5 par une solution de cyanure de potassium.
- élimination du liquide après le broyage (pH de celui-ci = 6,8).
- nouveaux épuisements de la pulpe par 2oocm3 puis 1oo cm3 de solution de sulfate d'ammonium comme précédemment et élimination des surnageants (respectivement à pH 7,2 et 7,4).
- enfin mise en suspension du virus par extraction du culot en plusieurs fois à l'aide d'une solution tampon phosphate M/2o pH 7.

Les inoculations mécaniques ont été faites le 1o mai 196o par friction du feuillage de jeunes Tabacs et Chenopodium quinoa préalablement saupoudré de carborundum.

Chez Chenopodium quinoa 9 plantes sur les 12 inoculées sont mortes après avoir présenté un flétrissement du sommet (top necrosis).

Chez les Tabacs 2 plantes sur les 25 inoculées ont présenté,l'une le 3 l'autre le 5 juin, des décolorations vert pâle en forme d'anneaux et de lignes sinueuses. Ces symptômes ne se sont manifestés que sur une ou deux feuilles, puis les plantes ont repris un aspect normal.

La souche de virus ainsi isolée a été entretenue pendant l'été par repiquage sur Tabac mais sans y produire de symptômes jusqu'au mois de septembre, époque à laquelle nous avons commencé l'étude du virus.

II. Symptômes du virus chez différentes plantes tests.

1.- Tabac, Nicotiana tabacum (variétés "Samsun" et "White Burley"

Nous n'avons pas observé de symptômes primaires sur les feuilles inoculées. Les symptômes secondaires consistent en décolorations vert pâle ou blanches pouvant devenir nécrotiques et ayant la forme d'anneaux ou de lignes sinueuses parallèles (fig.2).

Ces symptômes commencent à apparaître après une durée d'incubation de 2o jours au moins. Dans une série d'expériences faite dans une pièce à température de 2o° à 22° sous un éclairage de 5.ooo lux, 14 h. par jour, les premiers symptômes ont été observés le 22ème jour après l'inoculation. On notait cependant encore de nouvelles extériorisations de symptômes le 35ème jour. A ce moment, les symptômes sur les premières plantes reconnues malades s'étaient déjà fortement estompés. Cette guérison apparente est de règle chez les virus du type Ringspot. Pour notre virus du

./.

Cerisier rarement plus de 2 feuilles montrent des symptômes; toutes les feuilles formées ultérieurement ont un aspect entièrement normal bien qu'elles contiennent encore le virus.

2.- Nicotiana rustica: pas de symptômes primaires observés sur feuilles inoculées.

Les symptômes secondaires sont très discrets et consistent seulement en taches ou zonations vert pâle assez étendues mais à contour mal délimité. Beaucoup de plantes ne montrent aucun symptôme. Le virus est néanmoins abondant dans le jus des feuilles et facilement transmissible mécaniquement à d'autres plantes qui réagissent d'une manière plus caractéristique (p. ex) Chenopodium quinoa).

3.- Concombre, (Cucumis sativus). Chez la variété "Vert long de Chine", les inoculations étant faites sur les cotylédons tout juste étalés, on peut noter les premiers symptômes lors du pointement de la première vraie feuille. Il se forme au fur et à mesure du déploiement de celleci, des taches décolorées de grande taille formant une très belle mosaique. La durée d'incubation la plus courte pour le début des symptômes a été de 12 jours, mais la mosaique n'est vraiment nette que vers le 25 ou le 30ème jour. Après cette époque elle disparaît entièrement et les nouvelles feuilles formées sont d'aspect normal.

Le virus a pu être reisolé, mais apparemment sa concentration n'est pas élevée chez le concombre au stade de guérison apparente, (la moitié seulement de plantes tests de Chenopodium quinoa inoculées avec le jus de concombre ont été infectées). Chez le cornichon "Vert long parisien", -variété très sensible qui nous a été indiquée par Mr. MORVAN- la mosaique est plus durable et elle affecte davantage de feuilles.

4.- Haricot, (Phaseolus vulgaris). Une série de variétés de Haricot a été inoculée en serre froide le 12 janvier 1961. Aucune réaction locale n'a été notée sur les feuilles primaires inoculées, mais le 14 février des symptômes secondaires apparaissaient sur les feuilles trifoliées. Ces symptômes consistaient en taches vert pâle ou jaunes, bien délimitées; sur les plus jeunes feuilles on notait seulement une distortion accompagnée de quelques nécroses. Ces symptômes ont pu être observés plus ou moins nettement chez les variétés Haut d'Or, Superviolet, Tendergreen, Saxa et Genfermarkt (fig. 3).

5.- Chenopodes.

Chenopodium quinoa est une plante test particulièrement intéressante pour la mise en évidence rapide du virus du Cerisier. Dès le 5ème jour après l'inoculation les feuilles présentent des lésions locales blanc jaunâtre assez étendues (fig. 4),

./.

puis vers le 8ème jour les jeunes feuilles du sommet s'incurvent vers le bas (épinastie) et bientôt se flétrissent. Les plantes s'affaissent et meurent en 12 à 15 jours par suite de la nécrose progressive de la tige (fig. 5-6).

Le virus du Cerisier atteint une forte concentration chez Chenopodium quinoa, mais il est difficile de l'entretenir chez cette espèce en raison des repiquages très fréquents (tous les 15 jours) nécessités par la mort des plantes.

Chenopodium album.

Cette espèce réagit différemment selon son âge lors de l'inoculation. Lorsque celle ci est faite au stade 4 à 5 feuilles on obtient la production de lésions locales sur les feuilles inoculées et des symptômes de choc sur le sommet. Cependant après la période de crise, certaines plantes se maintiennent vivantes, alors que Chenopodium quinoa est invariablement tué par le virus.

Lorsque l'inoculation de Chenopodium album est faite chez les plantes plus âgées on obtient bien des lésions locales sur les feuilles subterminales inoculées, mais il n'y a plus de flétrissement du point végétatif.

Chez Chenopodium amaranticolor l'inoculation mécanique produit sur les feuilles subterminales inoculées des lésions locales abondantes, mais le virus reste confiné à la feuille inoculée. Nous n'avons jamais observé de symptômes d'infection généralisée et le virus n'a pu être réisolé de cette plante.

Comparaison avec les symptômes d'autres virus voisins.

Nous avons pu tester par comparaison avec notre virus du Cerisier, deux souches de virus de type Ringspot: le virus du Ringspot du framboisier (RRSV), et le virus de la mosaique de l'Arabis (AMV) obligeamment adressées par le Dr. CADMAN (Scottish Horticultural Research Institute, INVERGOWRIE). Ces deux virus ont des propriétés très voisines de notre virus du Cerisier.

Les plantes tests utilisées ont réagi aux trois virus.

Chez le Tabac, Nicotiana tabacum les symptômes de Ringspot sont absulument comparables.

La différence la plus importante est observée chez Chenopodium amaranticolor: Le virus du Cerisier et le Ringspot du Framboisier donnent seulement une réaction par lésions locales sur certaines des feuilles inoculées, tandis que le virus de la mosaique de l'Arabis donne dans les mêmes conditions une infection généralisée produisant un rabougrissement important.

./.

Fig. 3

Fig. 5

Fig. 6

Fig. 1a

CERISIER KEMBS (Virus Pfeffingen)

fig. 3

fig. 2

fig. 1b

Chez la plupart des autres espèces où l'infection est généralisée, l'observation des symptômes révèle des différences entre les 3 virus. Leur virulence respective est plus ou moins grande suivant la plante test considérée:

ainsi chez Chenopodium quinoa le virus du Cerisier et le virus RRSV produisent toujours une maladie léthale, tandis que AMV cause un rabougrissement intense, mais d'ordinaire sans mort de la plante.

Chez Phaseolus vulgaris, c'est le virus AMV qui donne la réaction la plus forte, surtout nécrotique. Avec le virus RRSV les symptômes du type panachure "aucuba" sont prédominants. Le virus du Cerisier donne des symptômes beaucoup plus discrets chez les mêmes variétés (Saxa et Genfermarkt).

Chez Cucumis sativus le virus du Cerisier donne des décolorations plus belles et plus étendues que RRSV et AMV.

Chez Nicotiana rustica la gravité des symptômes est comparable chez AMV et RRSV (nombreuses décolorations en anneaux ou en lignes sinueuses). Le virus du Cerisier donne au contraire seulement des marbrures à peine perceptibles.

III. Propriétés physiques du virus du Cerisier.

Celles ci ont été déterminées dans un extrait brut de Chenopodium quinoa au stade des symptômes de choc, 8 jours après l'inoculation.

Un gramme de feuilles a été broyé au mortier dans 9 cm3 de tampon phosphate M/2o pH 7. Le jus exprimé a servi aux expériences suivantes:

a - dilution limite.

Une partie de l'extrait de Chenopodes (considéré d'après son mode de préparation comme la concentration 1/1o) a été diluée avec du tampon phosphate de façon à réaliser les concentrations, 1/1oo, 1/5oo, 1/1.ooo, 1/1o.ooo. Trois plantes tests de Chenopodium quinoa ont été inoculées avec chaque dilution.

Les résultats observés 1o jours plus tard ont montré que le jus était encore infectieux à la concentration de 1/1o.ooo (3 plantes sur 3 infectées à toutes les dilutions).

b - température d'inactivation.

Une autre partie de l'extrait a été mise en tubes capillaires scellés. Chaque tube a été porté l'un après l'autre pendant 1o minutes au bain-marie ajusté respectivement aux températures suivantes, 5o°, 56°, 6o°, 62°, 64° 66°, 68° et 7o°. Les inoculations ont été faites aussitôt après le traitement sur 3 jeunes Chenopodium quinoa pour chaque température.

./.

Des infections ont été obtenues jusqu'à une température de 64° inclusivement. (3 plantes malades sur 3 de 5o° à 64°, o plante sur 3 aux tempéraures 66°, 68° et 7o°).

o - durée de conservation in vitro.

Cinq tubes capillaires scellés contenant le jus de Chenopodes ont été placés à la glacière à 4°. Les inoculations échelonnées de Chenopodium quinoa ont été effectuées pour déterminer la longévité du pouvoir infectieux dans ces conditions.

Les résultats ont montré que le jus était encore capable de produire des contaminations après 9 jours (3 plantes sur 3 infectées aux inoculations faites 2, 3, 4, 5, et 9 jours après la préparation du jus).

IV. Purification du virus.

Des expériences de purification de virus du Cerisier ont été effectuées en partant de feuilles de Tabacs ou de Chenopodium quinoa prélevées au début de l'apparition des symptômes.

Le virus a été concentré en utilisant soit la méthode de précipitation par l'acétone à 5o% selon HENDERSON et WINGARD (1931) modifiée par BERCKS et GEHRING (1957), soit la méthode de STEERE (1956) utilisant le mélange butanol normal + chloroforme et l'ultracentrifugation (voir la publication plus haut). Une combinaison des deux méthodes comportant un prétraitement de clarification du jus par le butanol chloroforme suivi d'une précipitation du virus par l'acétone a été aussi essayée pour se passer de l'ultracentrifugeuse.

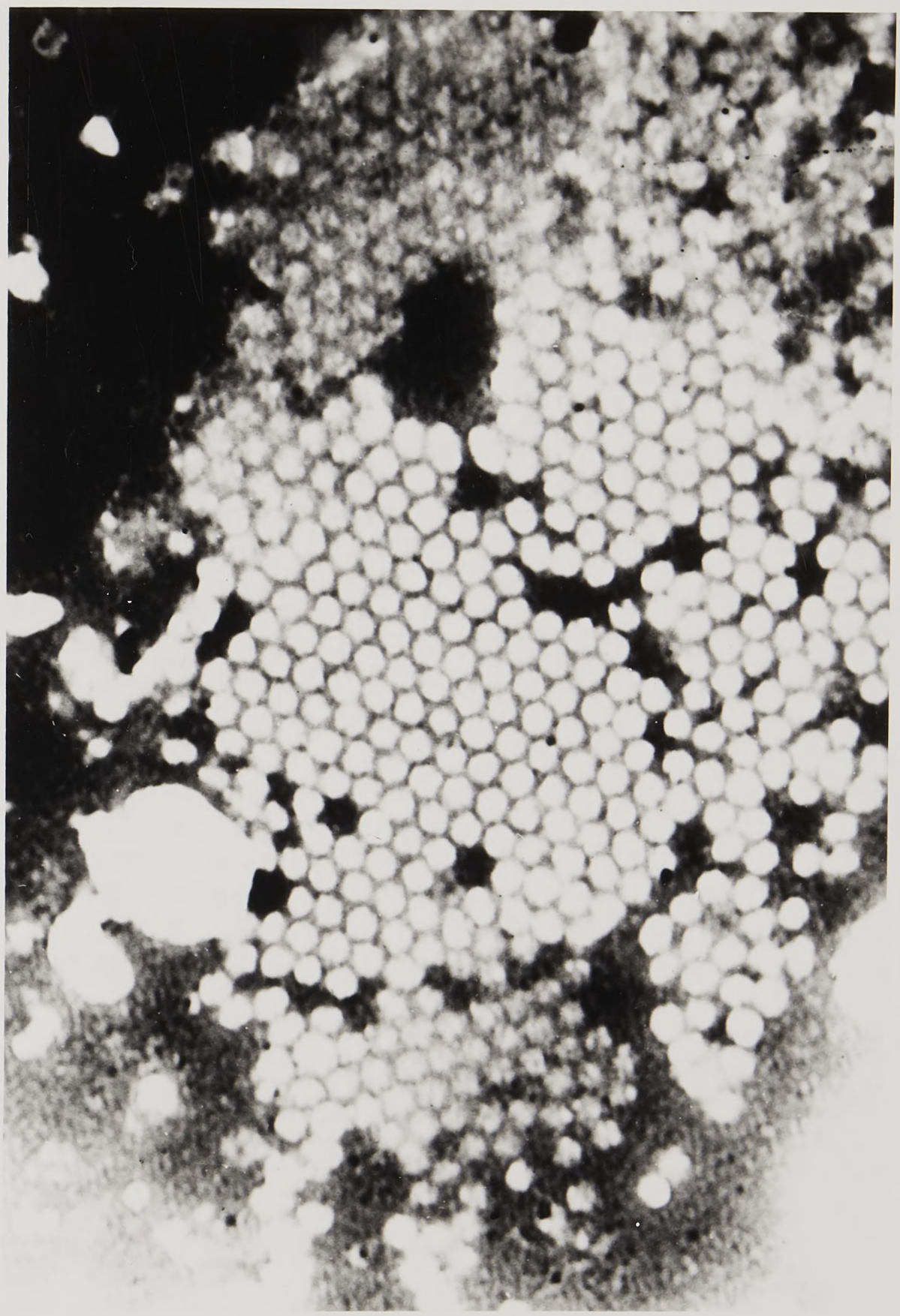
Des suspensions de virus, obtenues en épuisant par contact prolongé avec une solution tampon à basse température les culots de sédimentation, puis élimination par centrifugation à faible vitesse de la partie insoluble, ont été testées au point de vue de leur pouvoir infectieux. Une autre partie a servi aux examens au microscope électronique (+).

a - activité infectieuse.

Des extraits purifiés par la méthode au butanol chloroforme et hypercentrifugation, par l'acétone au 1/2 et par la combinaison des deux méthodes ont subi -après avoir été conservés pendant 4 et 3 semaines à la glacière à 4°- des dilutions successives.

Avec chaque dilution 3 plantes test de Chenopodium quinoa ont été inoculées.

./.



Virus de la Maladie de Pfeffingen. Coloration négative à l'acide Phosphotungstique (G I40.000 x)

Avec le premier extrait (butanol chloroforme -de concentration équivalant à lo fois celle du jus initial); la dilution infectieuse limite se trouvait un peu audessus de 1/1.ooo (3 plantes sur 3 infectées aux dilutions 1/lo, 1/loo, 1/5oo et une plante infectée sur 3 à la dilution 1/1.ooo).

Avec le deuxième extrait (acétone au 1/2 -de concentration équivalant à celle du jus initial) la dilution infectieuse limite se trouvait entre 1/loo et 1/5oo (3 plantes sur 3 infectées à la dilution 1/lo, 1 plante infectée sur 3 à 1/loo).

Le troisième extrait résultant de la combinaison des deux méthodes précédentes -(concentration lo fois celle ci jus initial) était encore infectieux à la dilution 1/loo seulement (3 plantes infectées sur 3 à la dilution 1/lo, 1 plante infectée sur 3 à la dilution 1/loo, rien au delà).

Si l'on compare ces résultats à ceux des essais de dilution du jus brut, on voit que le pouvoir infectieux des extraits purifiés lui est très inférieur (de loo fois au moins).

Des améliorations aux méthodes de purification, notamment la conduite des opérations aux voisinages de o°, permettraient peut être une meilleure conservation du pouvoir infectieux.

b - examen au microscope électronique.

Un extrait du virus du Cerisier préparé à partir de Tabac par la méthode au butanol chloroforme et 3 cycles d'ultracentrifugation, a été traité par l'acide phosphotungstique neutralisé à pH 7 (servant d'opacifiant) et observé au microscope électronique de la Station Centrale de Pathologie Végétale (+).

Sur la marge des microgouttes de la préparation on observait de nombreuses particules nettement polyédriques d'un diamètre moyen de 20 milli µ.

En certains points de la préparation ces particules formaient des amas particulièrement volumineux (fig. 7).

Des expériences analogues de purification faites avec les deux virus RRSV et AMV et ont permis l'observation de très nombreuses particules, comparables en première approximation à celles du virus du Cerisier et formant comme lui des amas.

On peut supposer que l'état d'aggrégation considérable des particules est du au mode de purification du virus plutôt qu'à la technique de préparation pour l'examen électronique.

L'état d'aggrégation du virus expliquerait la réduction du pouvoir infectieux des extraits purifiés.

(+) Nous remercions vivement M. CORNUET et Mme MICHON pour les examens électroniques, M. GALLET pour l'hypercentrifugation. M. KUSZALA pour les inoculations du virus.

PROPRIETES D'UNE SOUCHE DU VIRUS DE LA MOSAIQUE DE LA LUZERNE (MARMOR MEDICAGINIS HOLMES) ISOLEE EN ALSACE.

par A. VUITTENEZ et J. KUSZALA

Station de Pathologie Végétale de COLMAR

Au printemps 1958 une expérience d'inoculation mécanique à partir de feuilles de Luzerne montrant une panachure jaune a permis à l'un de nous(J. KUSZALA) d'obtenir un virus produisant une infection généralisée sur le Tabac. De nombreux isolements effectués depuis lors à partir de Luzerne(51 isolements positifs) indiquent que la maladie est commune dans la région de COLMAR. L'étude du spectre de plantes hôtes et des propriétés physiques du virus, enfin la purification et l'observation de celui-ci au microscope électronique permettent de vérifier qu'il s'agit du virus de la mosaique de la Luzerne (Marmor medicaginis Holmes) dont la présence n'avait pas été signalée jusqu'à présent en France.

I. Symptômes de la maladie sur différentes plantes hôtes.

1. Luzerne et légumineuses.

Le symptôme le plus caractéristique chez la Luzerne est la présence sur les feuilles de décolorations jaune-vif, parfois en taches ou en anneaux, mais le plus souvent en bandes étroites parallèles aux nervures (figure 1). Le virus a néanmoins été isolé de Luzernes présentant seulement un feuillage vert jaunâtre avec "Vein-banding" ou mosaique légère. Toutes les tiges d'une même touffe ne sont pas atteintes avec la même intensité. Les unes ont une longueur normale les autres sont plus courtes avec les derniers entre noeuds rapprochés formant une rosette de feuilles terminales. Le limbe des feuilles des plantes malades est souvent plus étroit que celui des plantes saines.

Nous n'avons pas réussi jusqu'à présent à isoler le virus de la mosaique de la Luzerne, à partir de trèfle blanc ou violet présentant des symptômes de mosaique.

Fait surprenant, les tentatives de transmission mécanique du virus ne nous ont pas donné de résultats jusqu'à présent chez la Luzerne, (Medicago sativa), ni chez le trèfle violet (Trifolium hybridum), le trèfle incarnat (T. incarnatum), la Vesce (Vicia cracca, la Fève (Vicia faba), le Pois (Pisum sativum, ou le Lupin (Lupinus albus).

Au contraire la réaction du Haricot (Phaseolus vulgaris) s'est montrée très intéressante. En inoculation mécanique avec le carborundum le virus de la mosaique de la Luzerne produit sur les feuilles de Haricots la formation de belles lésions locales (figure 2). D'ordinaire, l'inoculation est faite sur les feuilles primaires avant qu'elles soient complètement étalées; dans quelques cas l'inoculation de feuilles trifoliées a permis également d'obtenir des lésions locales abondantes. La même réaction a été observée chez Vigna sinensis variété "Black" sur les feuilles primaires ou les feuilles trifoliées; cette espèce réagit cependant d'une manière plus capricieuse que le Haricot.

Toutes les variétés de Haricots testées ont permis d'obtenir la formation de lésions locales. Dans les conditions les plus favorables les lésions apparaîssent sous forme de petits points translucides dès le troisième jour après l'inoculation. Peu à peu les lésions augmentent de taille, leur centre reste blanc et leur pourtour brunit. Le plus souvent leur taille atteint 1 mm. mais exceptionnellement des lésions de 1/2 cm. se sont formées. En hiver lorsque la température est comprise entre 5 et 10° on observe rapidement l'apparition de nécroses de petites nervures celles-ci peuvent gagner le pétiole et produire la mort complète de la feuille inoculée. Parmi les variétés essayées "Superviolet" donne des lésions locales bien nettes même en hiver, alors que chez les autres variétés le limbe se nécrose rapidement sur une assez grande surface("Saxa" et "Genfermarkt"). Quoi qu'il en soit le virus reste confiné à la feuille inoculée: nous n'avons jamais obtenu d'infection systémique des jeunes feuilles nouvellement formées.

2. Solanacées.

Tabac

L'inoculation mécanique du virus au Tabac ("Samsun" "White burley", Xanthi") réussit très facilement. Aucun symptôme primaire évident ne se manifeste sur la feuille inoculée. Les symptômes secondaires apparaîssent sur les jeunes feuilles nouvellement formées sous forme de taches jaunes puis de déformations très prononcées; à ce stade on observe parfois à la surface inférieurede certaines feuilles des expansions du limbe (énations). La durée d'incubation sur Tabac a varié de 9 jours à 25 jours. La durée moyenne étant de 15 jours. D'ordinaire, si l'on utilise le carborundum comme abrasif 100% des plantes sont contaminées. Les études qui vont suivre ont été réalisées avec une souche entretenue par repiquages successifs sur Tabac où elle donne des symptômes très intenses (souche SF COLMAR 1958).

./.

Nicotiana glutinosa:	symptômes semblables à ceux de N.tabacum mais taches jaunes de grande taille; il n'a pas été observé d'énations chez cette plante.
Nicotiana rustica:	les feuilles inoculées mécaniquement, se nécrosent et tombent rapidement. Les symptômes secondaires apparaîssent sur les jeunes feuilles sous forme de mosaique diffuse devenant rapidement necrotique. Le brunissement gagne le pétiole; souvent le sommet de la plante meurt ("Top necrosis"); puis se forment des pousses latérales, d'ordinaire sans symptômes.
Nicotiana glauca:) Nicotiana langsdorfi:) mosaique et fortes déformations sur les Nicotiana sylvestris:) jeunes feuilles nouvellement formées.	
Petunia hybrida:	nanisme avec mosaique jaune. Les plantes inoculées jeunes meurent rapidement.
Capsicum annuum:	Sur les jeunes feuilles nouvellement for - mées, mosaique et frisolée intenses; parfois nécroses noires.
Atropa belladona:	réaction très intense: jaunissement des feuilles subterminales, mosaique puis nécroses le long des nervures; les feuilles néoformées deviennent très étroites. La croissance du bourgeon terminal est stoppée. Sur les rejets mêmes symptômes très accentués (fig.4)
Datura sp.	sur jeunes feuilles, larges taches jaunes, pouvant se nécroser. Chez Datura metel les symptômes disparaissent rapidement. Chez Datura tatula la mosaique est plus durable.
Physalis floridana:) Browalia demissa:)	mosaique et panachure aucuba sur certaines feuilles.

./.

Pomme de terre (Solanum tuberosum) Les premiers essais d'inoculation de boutures de "Bintje" ont donné des résultats incertains, mais en utilisant des plantules de semis de "Ostbote" des transmissions positives ont été obtenues en juin 1960.

Sur les feuilles inoculées apparaîssent des taches ou des anneaux de couleur noire. Des nécroses semblables se forment ensuite sur les autres feuilles et au bout d'une durée variable le sommet présente des symptômes de choc avec rabougrissement intense et formation de très petites feuilles. La croissance est stoppée et la tige peut même se déssècher entièrement. Les rejets qui réussissent à prendre naissance ont des feuilles de très petite taille montrant une mosaique jaune intense, et des déformations. La durée d'apparition des premiers symptômes varie chez la pomme de terre de 4 semaines -lorsque les plantes sont de grande taille- à 5 jours seulement lorsqu'on utilise de très jeunes plantules de semis. Le pourcentage de plantes infectées par inoculation mécanique est de l'ordre de 75% chez les semis d"Ostbote".

Solanum nigrum (var. villosum): mosaique.

Tomate. (Solanum lycopersicum): Malgré de nombreuses tentatives avec les variétés "Marmande" et "Marglobe" aucun symptôme n'a été observé, sur les plantes inoculées et le virus n'a pu en être réisolé.

3. Cucurbitacées.

Cucumis sativus:

Les premiers essais d'inoculation du virus au concombre (var. "Long vert") réalisés en été ne nous ont pas donné de résultat, mais durant l'hiver 1960-1961 des concombres (var. vert long chinois) et des cornichons (var. vert long parisien) ont été infectés, cette dernière variété à 100%. L'inoculation étant faite au stade cotylédons étalés, une mosaique apparaît sur la première feuille le 11e jour. Les plantes cessent pratiquement de s'allonger dès qu'elles ont 2 ou 3 feuilles. Dans un essai, toutes les plantes présentaient une boule de feuilles atrophiées, l'allongement de la tige ayant été entièrement stoppé (fig. 5).

./.

F. 3.

F.2

F. 4.

F.6

F.5.

F.7

F.9.

F.8

4. Chenopodes.

Chez Chenopodium quinoa les feuilles inoculées présentent de petites lésions chlorotiques peu distinctes qui disparaissent peu à peu sans devenir nécrotiques. Sur les jeunes feuilles nouvellement formées apparaît une mosaique diffuse accompagnée de gaufrage du limbe. La croissance reste très faible, mais d'ordinaire les plantes ne meurent pas. Dans certains cas lorsque les plantes sont cultivées en pleine lumière des taches jaunes étendués apparaîssent sur les feuilles.La durée d'incubation pour l'apparition des lésions locales est de l'ordre de 4 jours.

Chenopodium amaranticolor; est également sensible. Les inoculations faites en automne 1960 ont montré sur les feuilles inoculées la formation de lésions locales blanchâtres abondantes et sur les jeunes feuilles néoformées une mosaique intense accompagnée de déformations.

Chenopodium album: a été également infecté avec des symptômes de mosaique et de déformations foliaires.

5. Plantes diverses.

Le céleri (Apium graveolens) et le laiteron (Sonchus oléraceus) ont été inoculés expérimentalement sans succès.

Ces deux plantes présentent parfois dans la nature des symptômes de mosaique jaune et sont citées dans la littérature comme des hôtes possibles du virus. Néanmoins nous n'avons pu en isoler le virus de la mosaique de la Luzerne.

II. Essais de transmission par pucerons (Myzus persicae).

A l'aide d'une souche de Myzus persicae fournie par la Station Centrale de Zoologie agricole (+) nous avons tenté 5 expériences de transmission du virus.

Les pucerons élevés sur feuilles détachées de chou étaient privés de nourriture pendant 24 heures, puis déposés sur des plantes de Tabac malade. Après des périodes d'alimentation de 24 h. à 10 minutes les pucerons étaient prélevés au pinceau et déposés par groupes de 5 ou 10 sur les plantes tests de tabac ou de Nicotiana rustica; au bout de 24 h. les insectes étaient détruits par une pulvérisation de parathion.

./.

Les résultats ont été maigres; une seule plante sur 52 a été contaminée chez Nicotiana rustica et une sur 40 chez le Tabac "Samsun".

Le virus de la mosaique de la Luzerne est indiqué comme facilement transmissible par le puceron du pois (Macrosiphum pisi), mais nous n'avons pu tester cette espèce.

III. Propriétés physiques du virus.

Celles-ci ont été déterminées en juin 1959 dans du jus de Tabac parvenu au stade d'infection chronique et montrant des symptômes foliaires accentués.

a - température d'inactivation.

5 cm3 de jus fraîchement exprimé, non centrifugé, ont été placés en tubes de verre non bouchés et maintenus au bain-marie pendant 10 minutes respectivement à des températures de 45°, 50°, 52°, 55°, 58°, 60° et 66°. Les inoculations étaient effectuées aussitôt après sur des plantes de Tabac et de Haricot.

Dans une expérience, on a obtenu des infections sur Tabac avec le jus chauffé 10 minutes à 55°, mais plus rien à 58°. Sur Haricot on obtenait encore des lésions locales avec le jus chauffé à 52°, mais plus rien avec le jus chauffé à 55°.

Dilution limite.

Le jus brut de Tabac, fraîchement exprimé, non centrifugé a été dilué avec de l'eau distillée de façon à réaliser les concentrations 1/2, 1/4, 1/8 etc. Comme précédemment, les inoculations étaient faites au Tabac et au Haricot.

A l'époque où nous avons opéré et partant de plantes source de virus qui se trouvaient au stade chronique, la concentration du virus était très peu élevée. On obtenait encore des infections chez le Tabac avec du jus dilué au 1/256, mais plus aucune lésion locale chez le Haricot.

Comme la littérature l'indique c'est 10 à 15 jours après l'inoculation que la teneur en virus est la plus élevée chez le Tabac. Avec du jus prélevé à ce stade nous avons obtenu jusqu'à 1.000 lésions locales par feuille inoculée de Haricot.

./.

IV. Concentration et isolement du virus.

Le virus de la mosaique de la Luzerne a pu être concentré et obtenu sous une forme purifiée à partir du jus de Nicotiana tabacum, Chenopodium quinoa et Chenopodium amaranticolor.

a - précipitation par l'Acétone.

Nous avons utilisé tout d'abord la méthode de purification mise au point pour le virus du Ringspot du Tabac par HENDERSON et WINGARD (1951), modifiée par BERCKS et GEHRING (1956).

Les feuilles sont broyées au mortier au sein d'un poids égal de tampon phosphate M/20 pH 7. Le jus est exprimé dans un nouet de gaze, congelé à -15°, dégelé, puis clarifié par centrifugation à faible vitesse.

Un demi volume d'acétone, réfrigérée préalablement à -15°, est ajouté au jus par petites quantités en agitant. Après un repos d'une heure à environ 4° le précipité floconneux qui s'est formé est centrifugé; celui-ci contient le virus qui peut être repris en suspension par épuisement du culot à l'aide d'un tampon phosphate.

Cette méthode qui n'éxige pas un matériel côuteux, permet de concentrer le virus et conserve son pouvoir infectieux. Cependant la solution finale contient beaucoup d'autres protéines qui empêchent l'observation du virus au microscope électronique.

b - méthode au butanol-chloroforme.

Cette méthode, mise au point également pour la purification du virus du Ringspot du Tabac (STEERE 1956), exige l'emploi d'une ultra centrifugeuse à grande vitesse (+) mais fournit des résultats beaucoup plus intéressants que la première méthode.

Les feuilles sont broyées dans un mortier réfrigéré; le jus exprimé est placé dans un flacon puis additionné lentement de 2 fois son volume d'un mélange 1/1 de Butanol normal et Chloroforme. On agite vigoureusement tout en maintenant à basse température pendant 1/4 heure.

L'émulsion obtenue est soumise à une centrifugation à faible vitesse qui conduit à la séparation de trois phases: au fond du tube la phase organique liquide la plus dense ayant dissous la chlorophylle, au dessus un disque solide formé des débris cellulaires et des protéines dénaturées, enfin la phase liquide supérieure contenant le virus. Celle-ci est soutirée.

./.

à l'aide d'une pipette puis clarifiée encore une fois par centrifugation à faible vitesse.

Le liquide surnageant est alors soumis à une centrifugation à grande vitesse (2 heures à 1o5.ooo g) qui sédimente la totalité du virus. Le surnageant est éliminé tandis que le fin dépôt au fond du tube contenant le virus est épuisé par une petite quantité d'eau distillée. Une centrifugation à faible vitesse élimine les parties insolubles.

On peut faire subir au surnageant un ou deux nouveaux cycles d'hypercentrifugation. On obtient ainsi un extrait final de virus limpide et stable qui peut être observé au microscope électronique.

V. Observations au microscope électronique.

Une préparation concentrée de virus obtenue par la technique de STEERE à partir de plantes de Chenopodium amaranticolor inoculées 2o jours auparavant, a été examinées au microscope électronique de la Station Centrale de Pathologie Végétale de VERSAILLES.

Une petite quantité d'extrait provenant de la dernière centrifugation a été additionnée d'un volume égal d'acide phosphotungstique à 1 % neutralisée à pH 7. Des microgouttes du mélange ont été pulvérisées sur la grille couverte d'une membrane de carbone.

Des particules caractéristiques ayant l'aspect de "grains de riz" ont été observées en abondance sur le pourtour des microgouttes (fig. 6). Les bâtonnets très courts, à extrémité arrondie, du virus de la mosaique de la Luzerne ont été déjà figurés et étudiés par BANCROFT et KAESBERG (196o).

Les mensurations effectuées sur quelques centaines de particules donnent pour notre virus extrait de Chenopodium amaranticolor les dimensions suivantes:

largeur 17 - 2o mu
longueur 2o - 6o mu
58% des particules ont une longueur comprise entre 25 et 4o mu

(+) La souche de Myzus persicae nous a été fournie par M. BONNEMAISON (Station Centrale de Zoologie agricole - VERSAILLES).

Les cycles d'ultracentrifugation ont été effectués par M. GALLET et les photos au microscope électronique par M. CORNUET et Mme. MICHON (Station Centrale de Pathologie Végétale).

Nous les remercions vivement.

Fig. 1, Luzerne naturellement infectée par LMV.

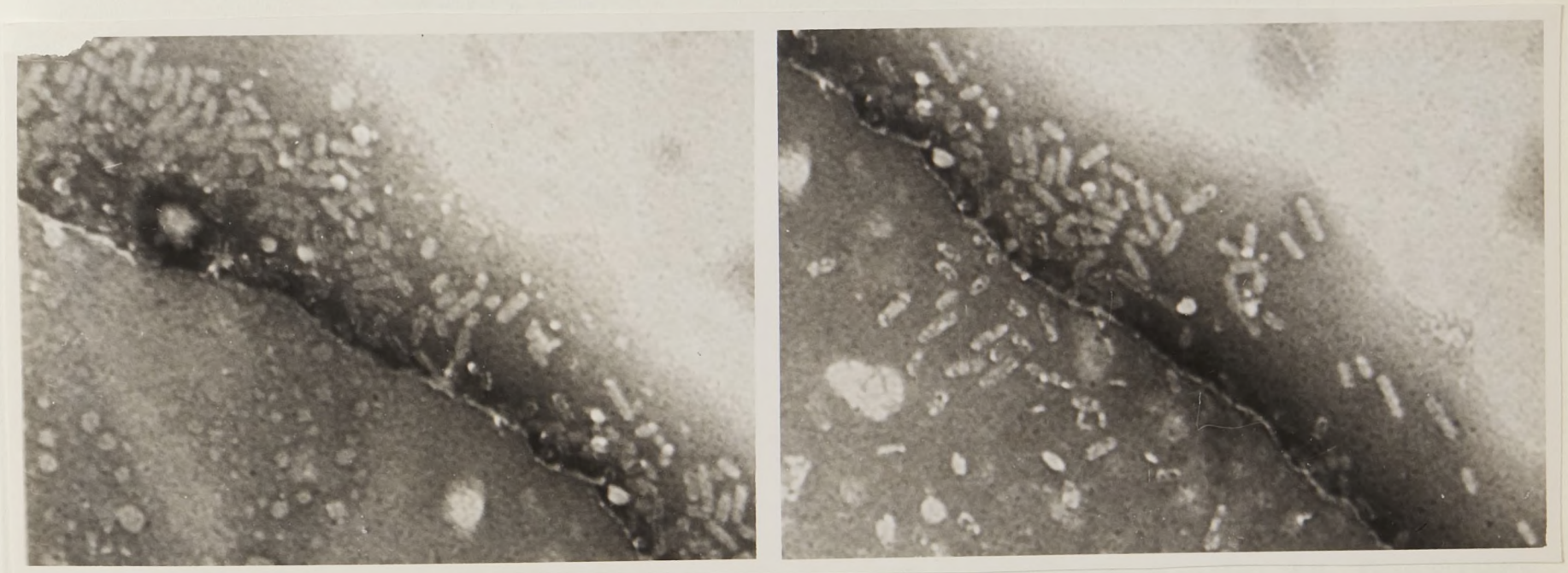


Fig. 7 a, Amas de particules du virus LMV sur la marge des gouttelettes de la préparation Gr. x 115.000

Fig. 7 b, Détail des particules du virus LMV Gr. x 200.000

ESSAIS SUR LES VIRUS REALISES

EN 1960 PAR LA STATION DE PATHOLOGIE VEGETALE D.AVIGNON

CM. MESSIAEN — M. ARNOUX — P. MAISON

I - ETUDE EN SERRE D.UN INHIBITEUR DE LA MOSAIQUE DU TABAC.

II - USAGE DE L.INHIBITEUR AU CHAMP SUR TOMATES. BAISSES DE RENDEMENT PROVOQUEES PAR LA MOSAIQUE DU TABAC.

III - UNE MALADIE DE L.AIL PROBABLEMENT DUE A UN VIRUS SON INFLUENCE SUR LE RENDEMENT.

I - ETUDE EN SERRE D.UN INHIBITEUR DE LA MOSAIQUE DU TABAC

Il est difficile de mener au champ des essais de tomate indemnes de mosaïque du tabac. Un grand pas serait fait si nous disposions d'un agent inhibiteur de transmission actif à faible dose, non corrosif, non salissant -défauts qu'on reproche au phosphate trisodique concentré, et aux tanins-.

Un article récent de LINDNER & KIRK Patrick (1), comparant les propriétés inhibitrices de plus de 300 produits chimiques, sur la mosaique du tabac signale en particulier les performances d'un détergent cationique le chlorure de Lauryldimethylbenzylammonium.

Nous avons pu nous procurer en France le bromure du même radical que nous désignerons dans la suite de ce texte par "produit B".

Nous avons d'abord mis en comparaison le produit B et le jus de Phytolacca Decandra, puissant inhibiteur abrigihe végétale. Les substances inhibitrices ont été mélangées à du jus infectieux en proportion variable. (Le jus de phytolacca était obtenu au mixer en ajoutant 5 parties d'eau à 1 de feuilles et tiges). Les mélanges ont été ensuite inoculés sur feuilles de Nicotiana glutinosa.

Les plantes choisies étaient de même age, et portaient au maximum 8 feuill·s, dont 4 seulement ont été retenues pour le dispositif de type "carré latin incomplet" avec 7 répétitions. Le tableau suivant exprime les résultats :

DOSES		n°	Nombre de lésions	
Produit B	Phytolacca		Produit B	Phytolacca
Témoin	Témoin	1	100	100
0,01 %	1 %	2	72	97
0,02 %	2 %	3	35	98
0,05 %	5 %	4	68	55
0,1 %	10 %	5	38	35
0,2 %	20 %	6	31	8
0,5 %	50 %	7	5	2

L'analyse des résultats confirme le parallélisme d'action des deux inhibiteurs, mais décalé, en raison des doses 100 fois moindres du produit B. Dans les deux cas, on ne peut séparer significativement du témoin que les n° 6 et 7. On obtient par ordre d'efficacité décroissante : 7 6 Témoin.*

* Analyse statistique des résultats effectués sur les logs.de x+1

Nous avons donc abandonné l'idée d'utiliser le jus de Phytolacca decandra dans la pratique, et poursuivi les essais en serre avec le détergent.

Un deuxième essai réalisé sur Nicotiana Xanthi N.C., nous a donné les résultats suivants (même dispositif) :

D O S E S	Nombre de lésions en % du Témoin
Témoin-jus dans inhibiteur	IOO
0,I % de produit B	I9,73
0,2 % de produit B	I,03
0,4 % de produit B	I,34
0,5 % de produit B	0,65

L'analyse des résultats permet de procéder au classement suivant, toujours par ordre d'efficacité décroissante : 0,5 % = 0,4 % = 0,2 % 0,I % Témoin.

On peut donc conclure à une assez grande efficacité inhibitrice du produit, se manifestant par une diminution considérable du nombre de lésions locales, pour des concentrations de 0,2 % environ avec N.Xanthi, de 0,5 % pour N.Glutinosa.

Un troisième essai a été réalisé sur tomates en inoculant de jeunes plants poussés en serre avec du jus infectieux dilué à I/10 (souche aucuba virulente du Professeur LIMASSET), additionné ou non de produit B. Nous avons obtenu les résultats suivants, après 10 jours d'incubation :

Inoculation avec	% de plantes montrant des symptômes après 10 jours	Observations
Jus témoin	64 %	--
-+ produit B o,I %	I6 %	--
= produit B o,2 %	I2 %	--
+ produit B o,5 %	0 %	--
+ produit B 1 %	0 %	phytotoxicité

Il est bien évident qu'une expérience, réalisée avec un hôte sensible est beaucoup moins précise, car nous n'avons par plante qu'une réponse qualitative, au lieu d'un chiffre comme ci-dessus.

On peut cependant déduire de l'ensemble des trois expériences que le bromure de lauryl dimethylbensylammonium possède de sérieuses propriétés inhibitrices de la mosaïque du tabac, à partir de doses comprises entre 0,2 et 0,5% suivant les plantes*.

REFERENCE

(1) - LINDNER R.C. KIRK PATRICK H.C. & WEEKS T.E.

Comparative inhibitions of virus multiplication by certain types of chemicals. PHYTOPATHOLOGY.49.pp.802.807. I959.

II - USAGE DE L.INHIBITEUR AU CHAMP SUR TOMATES. BAISSES DE RENDEMENT PROVOQUEES PAR LA MOSAIQUE DU TABAC

Notre essai, réalisé en I960 avait un double but. Le premier était d'estimer quelles pouvaient être les pertes de rendement respectives provoquées par deux souches de mosaïque du tabac sur des tomates précoces taillées et attachées, le second de voir si une modification minime de ces pratiques de taille et d'attachage pouvait retarder la propagation du virus de plante à plante.

En effet, si l'importance relative du rôle joué par les différentes sources auxquelles on a attribué l'origine des premiers foyers dans les cultures -terreau contaminé, tabacs manufacturés, transmission par la semence- est encore très mal élucidée, il est par contre hors de doute que les doigts des travailleurs qui repiquent, ébourgeonnent, arrêtent et attachent les plants aux piquets jouent un rôle très important dans la propagation ultérieure.

Nous avons pensé que l'on pourrait donner aux opéra-**

.../..

* la dose de 0,2 % avait été choisie pour l'essai au champ I960 après un premier essai sur N.Xanthi. Les essais ci-dessus, réalisés pendant l'automne I960 en serre semblent indiquer qu'il serait préférable de porter cette dose à 0,5 %.

** Les opérateurs n'étaient autres que les auteurs eux-mêmes pour plus de sûreté.

teurs les ficelles destinées à attacher les plants non pas à sec, mais dans un récipient contenant un inhibiteur de virus. Obligés d'y tremper sans cesse leurs doigts pour prendre les ficelles, ils se les désinfecteraient automatiquement après avoir taillé chaque plante.

DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Chacune de nos parcelles était constituée par une ligne de I8 plants de tomates sains, précédés de deux plants inoculés avant le repiquage, soit avec une souche virulente, de type "aucuba" isolée par P. LIMASSET soit avec un mélange de souches banales (issues de fragments de feuilles prélevées sur 800 plantes prises au hasard dans une de nos cultures de I959).

Les parcelles n° I ont été contaminées artificiellement, I5 jours après le repiquage, avec du jus provenant des deux premières plantes.

Nous avons laissé librement jouer la propagation naturelle dans les parcelles n° 2, la taille et l'attachage étant réalisés sans aucune précaution.

Pour les parcelles n° 3, nous avons pratiqué ces opérations en tenant les ficelles dans un récipient contenant une solution à 0,2 % de produit B. L'essai comportait 4 répétitions.

Les cueillettes, au nombre de I3, ont donné lieu à des notations portant sur le nombre et le poids des fruits, les précautions nécessaires étant prises pour éviter des recontaminations accidentelles entre parcelles.

L'étude détaillées des résultats (voir tableau) nous permet de tirer les conclusions suivantes :

I° - Il existe une assez grande différence d'action sur le rendement entre les deux souches, la mosaïque "aucuba" se montrant nettement plus déprimante.

2° - Les trois conditions de contamination se séparent très nettement quant à leur effet sur le rendement pondéral et sur le nombre de fruits.

3° - L'interaction Souches-Traitements est significative, et semble montrer que les précautions ont été moins efficaces avec la souche "aucuba" qu'avec la souche verte, ou probablement que les contaminations tardives dues surtout aux contacts de feuilles entre plantes, et non aux opérateurs sont sans gravité pour la souche commune, toujours nuisibles au con-

.../..

Effets étudiés			Rendement en kg. par plante	Nombre de fruits	Poids moyen des fruits (non triés)	% des plantes montrant des symptômes au 20/5	% des plantes montrant des symptômes au 15/6
Souches		Verte	I,370 kg.	3.958	79 g.	39 %	56 %
		Aucuba	I,I04 kg.	3.533	7I g.	46 %	5I %
P.p.d.s. (p = 0,05)			d= ± 0,207	n.s.			
Traitements		Parcelle n° I	0,975	2.I29	69 g.	I00 %	I00 %
		Parcelle n° 2	I,296	2.60I	75 g.	20 %	3I %
		Parcelle n° 3	I,44I	2.76I	79 g.	8 %	30 %
p.p.d.s. (p = 0,05)			d= ± 0,I02	d= ± 3I			
Interaction Souche-Traitement	Souches vertes	Parcelle n° I	I,3I5	I.I83	75 g.	I00 %	I00 %
		Parcelle n° 2	I,349	I.3I5	78 g.	I6 %	30 %
		Parcelle n° 3	I,592	I.460	83 g.	2 %	37 %
	Souche aucuba	Parcelle n° I	0,779	946	63 g.	I00 %	I00 %
		Parcelle n° 2	I,243	I.286	73 g.	24 %	32 %
		Parcelle n° 3	I,290	I.30I	82 g.	I4 %	23 %
p.p.d.s. (p= 0,05)			d= ± 0,I44	d= ± 57			

traire pour la souche aucuba virulente, qui provoque en particulier de très beaux symptômes sur fruits.

Enfin, nous avons indiqué pour mémoire le poids moyen des fruits récoltés dans chaque cas. Ce critère semble montrer que d'une manière assez générale, les diminutions de rendement sont dues aux effets cumulés d'une diminution du nombre des fruits et d'une réduction de leur poids moyen.

En résumé, les résultats de notre essai semblent montrer que des réductions de rendement de l'ordre de 30 % peuvent être provoquées sur tomate (dans les conditions de cultures normales du Vaucluse) par des attaques précoces et généralisées de mosaïque du tabac. On pourrait chiffrer à IO-I5 % des pertes de rendement dans des conditions de contamination moyenne (celles de nos parcelles n° 2). La souche virulente du Professeur LIMASSET semble environ deux fois plus nocive que la souche commune.

Des essais réalisés de façon moins minutieuse, et des précisions plus faibles nous ont cependant montré, sur d'autres parcelles les pertes de rendement dues aux virus sur tomates de conserve, non taillées, pouvaient atteindre 36 % pour la mosaïque du tabac seule, pour une inoculation partiquée I7 jours après le repiquage, I5 % pour une inoculation pratiquée 44 jours après le repiquage, et plus de 50 % pour le complexe Mosaïque du Tabac + Virus 1 du Concombre, provoquant le symptôme "filiforme".

III - UNE MALADIE DE L'AIL PROBABLEMENT DUE A UN VIRUS SON INFLUENCE SUR LE RENDEMENT

Notre attention était attirée en I959 sur le jaunissement anormal de cultures d'ail situées entre l'Isle sur Sorgue et Cavaillon. Ce jaunissement n'étant pas montré par toutes les plantes, une proportion plus ou moins grande d'entre elles restant saines suivant les champs, nous avons pensé qu'il pouvait s'agir d'un virus. Vues de près, les plantes malades montrent d'ailleurs une mosaïque bien caractérisée (voir photo ci-contre).

Nous avons donc prélevé, à maturité, en Juillet I959 des caïeux sur les plantes de trois catégories :

I° - plantes malades,
2° - plantes apparemment saines dans un champ très atteint
3° - plantes apparemment saines dans un champ très peu atteint.

Ces caïeux, plantés en Novembre I959, nous ont donné la récolte suivante en Juin I960 :

.../..

Catégories	Pourcentage plantes malades		Rendement en tonnes caïeux / ha
	% réels	arc sin. %	
1	I00	90,00	8,560
2	73	59,63	I0,233
3	I8	23,86	I3,772
p.p.d.s.		± 7,I6	± I,032

Il semble donc établi que ce symptôme de mosaïque est transmis par la semence, et que des plantes apparemment saines peuvent (probablement à la suite de contaminations tardives) donner une descendance malade. Le rendement des caïeux issus de plantes malades se montre très inférieur aux autres.*

Signalons que des caïeux de la catégorie n° 3, plantés en parcelle isolée à l'écart de l'essai précédent, n'n'ont montré que 5 à 6 % de plantes malades. Il y a eu donc probablement aussi recontamination à partie des parcelles n° I et 2 dans l'essai ci-dessus.

Ignorant de quel virus il peut s'agir - et s'il s'agit d'un virus, puisque nous commençons seulement les essais de transmission - nous n'en avons pas moins débuté une sélection sanitaire avec épuration et traitements insecticides, dont nous saurons en I96I si elle a été efficace.

Si c'est le cas, l'usage d'ail exempt de virus pourrait se montrer très profitable, surtout si on le combine à une conservation au frais durant l'été. En effet, nous avons pu constater cet hiver que la température à laquelle sont conservés les caïeux avait une grande influence sur la rapidité de pousse de l'ail une fois planté.

Une expérience limitée à 3 températures de conservation, nous a fourni les résultats préliminaires suivants : 5I jours après la plantation :

* Il est bien évident que l'expérience idéale aurait du être faite à partir d'une seule origine clonale, provenant d'un même terrain de culture.

N°	Température de conservation	Hauteur moyenne des plantes (cm)
1	11°C (constante)	8,98
2	25-30° (Août) 8-15° (Novembre)	2,45
3	25° C (constante)	1,47
	p.p.d.s. (p = 0,05)	$\pm$ 1,41

Nous espérons donc dans un avenir proche pouvoir définir de façon précise les conditions qui pourraient permettre de fournir aux cultivateurs une semence d'ail de qualité.

CAUSE DES RECHUTES DE LA FLAVESCENCE DOREE DE LA VIGNE

A. C A U D W E L L.

La flavescence dorée, grave maladie de la vigne, transmissible par la greffe (1) sévit dans plusieurs régions de France. Les ceps atteints présentent tout d'abord des symptômes de choc très prononcés (crise), puis se guérissent, ne subissant plus alors que des rechutes assez peu graves en moyenne.

Les phénomènes de guérison sont bien connus dans certaines maladies à virus (1,2,3,4,5,6 et 7). Les auteurs qui se sont penchés sur cette question chez les plantes annuelles distinguent le masquage (masking), qui correspond à une régression temporaire des symptômes à la suite d'influences externes, et le rétablissement (recovery) qui est permanent et provient d'une modification interne de la plante résultant de la présence du virus.

L'étude de la nature des rechutes de la flavescence dorée s'imposait donc du point de vue scientifique, comme du point de vue économique qui est évident. Elle a été entreprise dans deux voies différentes:

- Une étude du comportement des vignes dans les régions contaminées.
- Une étude en zone non contaminée des descendances végétatives des ceps malades.

I. ETUDE DU COMPORTEMENT DES VIGNES DANS LES REGIONS CONTAMINEES :

1°) Evolution de la maladie à partir de l'année de crise :

Les ceps d'un même vignoble ne sont pas atteints simultanément par la flavescence dorée. L'épidémie met en général plusieurs années à les toucher tous.

Sur chaque pied, la guérison intervient toujours dans les années qui suivent les symptômes de choc (crise) et n'est aucunement fonction de la situation du cep dans le vignoble ou des conditions de l'année.

La crise constitue donc un point de départ que nous pouvons mettre en évidence en considérant isolément chaque ensemble de pieds qui ont eu leur crise primaire dans la même année. La notation de la maladie se fait de 0 (absence de symptôme) à 5 (pied entièrement malade). Les notes intermédiaires sont données par les proportions de rameaux malades.

.../...

Selon ce système, la crise se traduit par une distribution de fréquences présentant un seul maximum au niveau des notes 4 et 5 : le pied est en général entièrement atteint dans le cas du Baco 22 A. Le maximum se situerait à une abscisse plus faible pour des cepages moins sensibles.

En seconde année la distribution de frécuence des notes devient nettement bimodale ; deux groupes apparaissent :

a) les pieds sans symptôme (note 0).

b) ceux qui rechutent, dont les notes se distribuent à peu près normalement autour d'une moyenne de 2,5 pour le Baco 22 A. Pour les cépages, plus résistants la note moyenne est plus faible, elle varie aussi avec l'âge de la vigne.

Dans les années suivantes, le nombre des pieds sans symptôme diminue, tandis que l'effectif des ceps qui rechutent augmente en proportion. La distribution de ces derniers reste sensiblement normale et centrée sur la moyenne de 2,5 environ : les rechutes augmentent en nombre, mais non en gravité.

Au bout de quatre ou cinq ans cette évolution se stabilise, la classe 0 étant sensiblement réduite.

Différentes observations, qu'il serait trop long d'énumérer ici, amènent à penser que la diminution progressive du nombre de pieds sans symptôme durant la période qui suit la crise pourrait provenir d'une reprise de la précocité normale du cep. Celui-ci, devenu tardif sous l'effet de la crise, extérioriserait mal les symptômes de la maladie. Il s'agirait d'un masquage qui s'ajoutera aux phénomènes de rétablissements que nous préciserons plus loin.

2°) <u>Corrélation entre les notes de deux ou plusieurs années consécutives</u> :

Des études statistiques ont montré qu'il n'existe pas de corrélation entre les notes de deux ou plusieurs années consécutives.

Si l'on considère encore ici l'ensemble des pieds qui ont subi leur crise dans la même année, on s'aperçoit que chaque hiver parait amener l'oubli des notes antérieures. Ainsi, les pieds sans symptôme, et ceux qui rechutent, bien distincts dans une année donnée, auront autant de chances les uns que les autres de rechuter à nouveau ou de se développer sans symptôme dans les années suivantes.

On découvre ainsi le caractère fortuit de l'apparition annuelle des symptômes de rechutes : l'ensemble des ceps qui ont eu leur crise dans la même année constitue un tout qui retrouve chaque hiver son homogénéité.

.../...

3°) Répartition topographique des crises et des rechutes :

L'aspect topographique d'une épidémie de flavescence dorée a déjà été décrit : la maladie se remarque d'abord sur quelques ceps qui sont les foyers d'où la maladie essaime l'année suivante en taches denses au centre, diluées sur la périphérie. Il se développe des foyers satellites qui rejoignent la tache principale. Une étude statistique publiée récemment montre que les pieds malades sont nettement groupés.

A cet aspect épidémique de la maladie s'oppose l'aspect des vignes anciennement malades où la flavescence dorée, à l'état endemique apparait de façon relativement bénigue (rechutes) sur des ceps répartis au hasard.

La répartition topographique des rechutes est donc bien différente de celle des crises, ce qui parait impliquer une différence de nature des unes et des autres, sur laquelle nous reviendrons.

4°) Conclusions provisoires :

De cet ensemble d'observations faites en plein champ dans les zones contaminées, deux faits paraissent essentiels : le caractère fortuit de l'apparition annuelle des symptômes de rechutes, et la différence de répartition topographique des symptômes de choc et de rechutes dans le vignoble.

III. ETUDE EN ZONE NON CONTAMINEE DES DESCENDANCES VEGETATIVES DES CEPS MALADES :

1°) Comportement des descendances végétatives des ceps malades

Les ceps qui sont dans la période de "rétablissement" qui suit les symptômes de choc, produisent des sarments malades, difficilement utilisables en multiplication végétative, qui meurent en hiver, et des sarments bien aoûtés, sains d'aspect, qui se prêtent au bouturage et au greffage.

Tous les essais qui seront mentionnés ici seront réalisés avec ces derniers.

Des boutures faites à partir de sarments de ceps malades prélevés en zone contaminée montrent les symptômes de maladie dans une proportion d'environ 15 %. Utilisés comme inoculum dans des essais de transmission par greffage, ils donnent des symptômes sur bois sains dans une proportion sensiblement égale, peut être légèrement supérieure.

La vigne étant d'autant plus sensible à cette maladie que la plante est plus jeune, les plantes malades d'un an meurent dans la majorité des cas. Si elles résistent naturellement, ou si on les maintient en vie par des soins particuliers, elles ne présentent les années suivantes que des symptômes très rares.

..../....

Les 85 % de boutures ou greffes qui n'ont pas manifesté la maladie en première année resteront définitivement indemnes de symptômes.

L'ensemble des descendances végétatives entièrement guéries ainsi obtenues, provenant soit des 15 % qui ont manifesté des symptômes en première année, soit des 85 % qui n'en ont jamais présenté, a été repris en vue de contaminer par greffage des bois sains. Aucun symptôme n'est apparu sur ces derniers.

Un fait similaire a été signalé par WALLACE (7) sur des Tabacs inoculés avec le virus du Curly Top de la betterave. Ces essais permettent de noter une différence importante entre les ceps examinés en zone contaminée et leurs descendances végétatives maintenues à l'abri des contaminations : le rétablissement, sujet aux rechutes dans le premier cas, est complet dans le second.

2°) Comportement des descendances végétatives groupées par cep-mère :

Si au lieu de considérer globalement les descendances végétatives de nombreux ceps malades, on étudie séparément celle de chaque pied, on est frappé par le fait que les symptômes, quasi absents dans certaines descendances, sont très fréquents dans d'autres. Il n'a pas été possible de rattacher ce fait à une quelconque caractéristique de la situation du cep dans le vignoble.

Dans une publication récente (8) nous avons montré que les ceps simultanément atteints de court-noué et de flavescence dorée ne présentent que des symptômes atténués de cette dernière virose. Leurs descendances végétatives se comportent de façon semblable, et ne manifestent que rarement les caractères de cette maladie.

Nous voyons apparaitre ici une corrélation entre les symptômes sur les ceps mères, et le comportement de la maladie sur leurs descendances végétatives. Il est tentant de pousser cette comparaison et de voir si les proportions de boutures malades ne sont pas déterminées uniquement par l'état de la maladie sur les ceps mères.

Deux faits ont pu être mis en évidence :

a) Nous avons vu que les pourcentages de rechutes augmentent au champ d'année en année après les symptômes de choc, à partir de la seconde année de maladie. Nous avons signalé, que cette augmentation des probabilités de rechute semble en relation avec la reprise progressive de la précocité normale du cep après la crise.

De même, on a pu constater que ce sont les ceps les plus anciennement atteints qui donnent les plus forts pourcentages de boutures malades dans l'année qui suit le prélèvement des bois.

.../...

b) Plus précisément, on peut noter que les boutures prélevées en hiver sur un cep malade auront d'autant plus de chance de présenter des symptômes de maladie durant l'été suivant, que le cep mère lui-même sera plus gravement atteint dans cette même saison.

Ce dernier résultat implique une induction des rechutes dans l'année qui précède, avant le prélèvement des boutures sur le cep. Il constitue pour l'étude de la cause des rechutes un apport important que nous avons exploité dans deux voies différentes :

- Recherche de la localisation sur le cep de ce phénomène d'induction.
- Recherche précise de la date de l'induction des symptômes de rechute.

A) <u>Recherche de la localisation sur le cep de ce phénomène d'induction des symptômes de rechutes</u> :

Des boutures faites avec des sections de vieux bois de souches malades n'ont donné aucun symptôme en serre.

Une étude sur boutures de sarment a été alors conduite de la façon suivante :

Tous les sarments d'un certain nombre de ceps malades ont été prélevés en hiver en laissant sur la souche de petits moignons de deux yeux, appelés cots ou coursons en viticulture. Chaque sarment a reçu un numéro qui a été reporté sur une étiquette fixée au courson dont il provient.

Les bois de taille ainsi récoltés ont été coupés en boutures de deux yeux qui ont été plantées dans l'ordre où elles se trouvaient sur chaque cep : sarment par sarment, et classées selon leur niveau sur le sarment (Tableau A).

Cette plantation, faite en serre, a donné les résultats suivants :

a) On a pu confirmer que certains ceps donnaient un nombre de boturesmalades bien supérieur à d'autres.

b) Pour un même cep, de grosses différences ont été notées entre les descendances des divers sarments ; certains ne montraient aucun symptôme, d'autres montraient de nombreuses boutures malades.

c) Lorsque les symptômes de flavescence dorée apparaissent, ceux-ci sont souvent groupés sur plusieurs boutures consécutives d'un même rameau.

Des tests statistiques ont montré que les groupements de 2 à 5 individus malades étaient beaucoup plus fréquents que dans une distribution au hasard.

.../...

Ainsi sur un rameau donné l'induction des symptômes de rechutes est localisée. Elle touche dès l'hiver (moment de la taille) une certaine longueur de sarment (1 à 10 yeux, puisque nous avons travaillé sur des boutures à deux yeux).

d) dans ces groupes de plusieurs boutures malades consécutives, celles qui sont au centre de ces groupes sont souvent les plus atteintes ; ce fait peut impliquer un point de départ de l'induction des symptômes très localisé .

e) Les tests statistiques montrent que le niveau d'apparition des groupes de boutures malades est absolument fortuit sur un rameau donné. Parfois deux ou plusieurs niveaux "induits" se révèlent sur un même sarment.

f) De même que les symptômes apparaissent souvent sur plusieurs boutures consécutives, ils se manifestent souvent simultanément sur les boutures de base du sarment et sur le courson correspondant resté sur le cep mère. Ce fait explique de façon précise les corrélations que nous avons notées entre les symptômes au champ sur le le pied-mère, et sur ses descendances végétatives. Il est encore précisé par l'observation suivante :

g) Les rechutes de flavescence dorée ne sont pas systémiques, ou le sont très peu.

En effet, si l'on considère qu'un courson est "induit" ou "prédestiné" à donner des symptômes, selon que les boutures de base du rameau qui y fut prélevé, manifestent elles même des symptômes, on s'aperçoit que la rechute ne concerne que ce courson, ou même souvent, que l'oeil supérieur de ce courson. Si les rameaux voisins du cep ne sont pas "prédestinés" à être malades, ils ne le seront pas, même en fin de saison.

En conclusion, nous pouvons dire, au point où nous en sommes, que l'induction des symptômes de rechutes se fait uniquement en zone contaminée, en des points très localisés des pousses feuillées, dans l'année qui précède ces rechutes. Les symptômes se développent alors sur toute la longueur des pousses issues des bourgeons "induits", mais ils sont très peu systémiques en direction des autres bourgeons.

Ces données nous amènent à faire une hypothèse sur la cause des rechutes : elles seraitnt provoquées par des réinoculations de l'insecte vecteur.

B) <u>Recherche précise de la date de l'induction des symptômes de rechute</u> :

Si cette hypothèse est exacte, il devrait être possible de fixer de manière précise les dates d'induction de deux façons différentes :

. . . . .

.../...

a) Prélèvement des boutures en vert à des périodes étagées au cours de toute l'année. Plantées en serre jusqu'à leur aoûtement, elles sont ensuite mises en repos végétatif. C'est l'année suivante que les symptômes doivent apparaitre sur certaines d'entre elles, et être interprétés.

b) Plantation de boutures saines en zone contaminée, à des époques variées et examen des symptômes l'année suivante.

Ces deux méthodes de travail ont été entreprises, et si elles ne donnent pas la nature du vecteur, du moins pourront-elles fixer les dates de réinfection (si toutefois il s'agit d'une réinfection), et permettre des essais de traitements insecticides rationnels.

III B. DISCUSSION DE L'HYPOTHESE D'UNE INDUCTION DES RECHUTES PAR REINOCULATION DE L'INSECTE VECTEUR :

L'hypothèse d'une induction des rechutes par une réinoculation de l'insecte vecteur l'année précédente a été basée sur les études des descendances végétatives.

Elle est conforme aux faits suivants :
- Les rechutes s'observent en zone contaminée, mais non sur les boutures malades en serre au-delà de leur première année.
- Les boutures prélevées en hiver sur un cep malade ont d'autant plus de chances de présenter des symptômes de maladie durant l'été suivant que le cep mère lui-même sera plus gravement atteint dans cette même saison.
- L'induction des symptômes de rechutes se produit à partir de points très localisés des pousses de l'année précédente, à un niveau quelconque.
- Il est important de noter également que cette hypothèse donne une interprétation simple d'un fait qui nous paraissait étonnant au chapitre I: Le caractère fortuit de rechutes : l'absence de corrélation entre les notes de deux ou plusieurs années consécutives.

Notre hypothèse cependant laisse obscurs un certain nombre de points qu'il s'agit à présent de discuter.
- La différence de répartition topographique des crises et des rechutes.
- Le caracère bénin des rechutes au regard des crises de première année.

I°) Interprétation de la différence de répartition topographique des crises et des rechutes :

Faire l'hypothèse d'une induction des rechutes par réinoculation de l'insecte vecteur revient à supposer que les crises de première année et les rechutes ont la même cause. On peut se demander dans ces conditions pourquoi les unes et les autres ont une répartition topographique différente.

..../....

Considérons l'Armagnac, où la flavescence dorée est apparue récemment. Son développement épidémique peut-être dû à trois causes à priori :

- L'introduction de l'insecte vecteur dans cette région, où le virus pouvait préexister localement sans se propager.
- L'introduction du virus dans cette région, où l'insecte vecteur pouvait préexister sans causer de dommages.
- L'introduction simultanée du virus et de l'insecte vecteur.

Dans ces trois cas, la figure de l'épidémie peut être celle que nous avons décrite au Chapitre I.

Par la suite, le vecteur et le virus sont généralisés de toute façon dans la région. La répartition au hasard des rechutes dans les vignobles est donc normale au stade endémique de la maladie.

Ces différences topographiques entre crises et rechutes sont donc tout à fait compatibles avec l'hypothèse d'une induction des rechutes par réinoculation de l'insecte vecteur.

2°) Caractère bénin des rechutes au regard des crises de première année.

Si les rechutes ont la même cause que les symptômes de choc, il peut sembler curieux qu'elles soient moins graves, même lorsque le cep a retrouvé, plusieurs années après la crise, sa précocité normale.

Les auteurs qui ont travaillé les phénomènes de rétablissement sur les viroses de plantes annuelles ont constaté qu'il s'acompagne d'une prémunition contre de nouvelles inoculations par le même virus. Cette prémunition n'est pas toujours absolue, et l'on signale des cas où la réinfection est possible (7).

Ces résultats, transposés à la flavescence dorée pourraient faire supposer que le caractère relativement bénin des rechutes pourrait provenir d'une prémunition partielle. Cette supposition semble être vérifiée par l'expérience suivante :

3°) Vérification indirecte de l'hypothèse d'une induction des rechutes par réinoculation de l'insecte vecteur :

Parallèlement aux bouturages faits à partir de sarments pris sur des ceps malades (Tableau A), décrits au paragraphe 2 A du Chapitre II, on peut utiliser les bois de pieds qui n'ont encore jamais présenté de symptômes de flavescence dorée. Il est possible de choisir de tels ceps en des lieux susceptibles d'être gagnés prochainement par l'épidémie.

Les pieds qui resteront sains durant l'été qui suit le prélèvement des bois ne montreront jamais de symptômes dans leurs descendances végétatives maintenues à l'abri des contaminations (Tableau B).

..../....

Au contraire, ceux qui tomberont en crise primaire présentent environ I5 % de boutures malades, (Tableau C), comme les bois pris sur les ceps anciennement atteints considérés au chapitre II(Tableau A).

On ne peut donc pas déceler de différences au moment du prélèvement des bois (Février) entre les ceps qui vont montrer des symptômes de crise, et ceux qui vont rechuter. Dans les deux cas, l'induction des symptômes est semblable, très localisée en un nombre réduit de points. (Tableau A et C).

Par contre, un ou deux mois plus tard, dès le débourrement, la maladie se généralise sur les ceps qui tombent en crise primaire, alors que les symptômes restent limités aux pousses issues des bourgeons "induits" dans les ceps qui rechutent.

Cette expérience montre que les rechutes commencent selon le même processus que les crises de première année. Elle constitue donc en quelque sorte une vérification indirecte de l'hypothèse d'une induction des rechutes par réinoculation de l'insecte vecteur.

Elle montre en outre que la flavescence dorée est très systémique lorsqu'elle se développe dans les tissus sains. Elle l'est au contraire très peu dans les tissus rétablis.

On peut objecter que sur les pieds anciennement malades, les symptômes atteignent les pousses issues des bourgeons que nous avons appelés induits sur toute leur longueur. Il est possible que cette systémie limitée à des organes en voie de croissance concerne des tissus qui poussent sains, car selon des études faites sur d'autres plantes (9), les méristèmes apicaux sont indemnes de virus.

Une différence apparait donc entre les crises et les rechutes, non dans leurs causes respectives, mais dans les capacités de réaction du cep qui est sain dans le premier cas, rétabli dans le second.

La faible systémie de la réinfection des ceps rétablis,mesurée par le nombre de boutures malades consécutives (chapitre II, 2 A) explique bien la répartition des symptômes de rechutes sur le cep mère : les pousses malades y sont groupées sur des bourgeons voisins.

Remarque :

Nous avons vu que les bois rétablis maintenus en serre plusieurs années ne présentent plus aucun symptôme. Utilisés comme inoculum en essais de transmission, ils sont incapables de provoquer la crise sur les bois sains.

Par contre, si l'hypothèse que nous avons faite d'une induction des rechutes au champ par réinoculation de l'insecte

..../....

vecteur est vérifiée comme nous le pensons, elle implique que la transmission par le vecteur est ici plus efficace que la greffe. Des faits analogues (7), ont été signalés et diversement interprétés.

CONCLUSION

Après avoir étudié les phénomènes de guérison et de rechutes d'une virose de la vigne, la flavescence dorée, nous avons été amené à formuler l'hypothèse que les rechutes étaient provoquées par des réinoculations de l'insecte vecteur.

Une expérience qui compare l'induction et le développement des symptômes sur les ceps qui entrent en crise, et sur ceux qui rechutent, parait constituer une vérification indirecte de cette hypothèse. Seule la réaction du cep, sain dans un cas, rétabli et peut être partiellement prémuni dans l'autre, est différente.

-:-:-:-:-:-:-:-:-

TABLEAUX A, B, et C.

ANALYSE DES DESCENDANCES VEGETATIVES

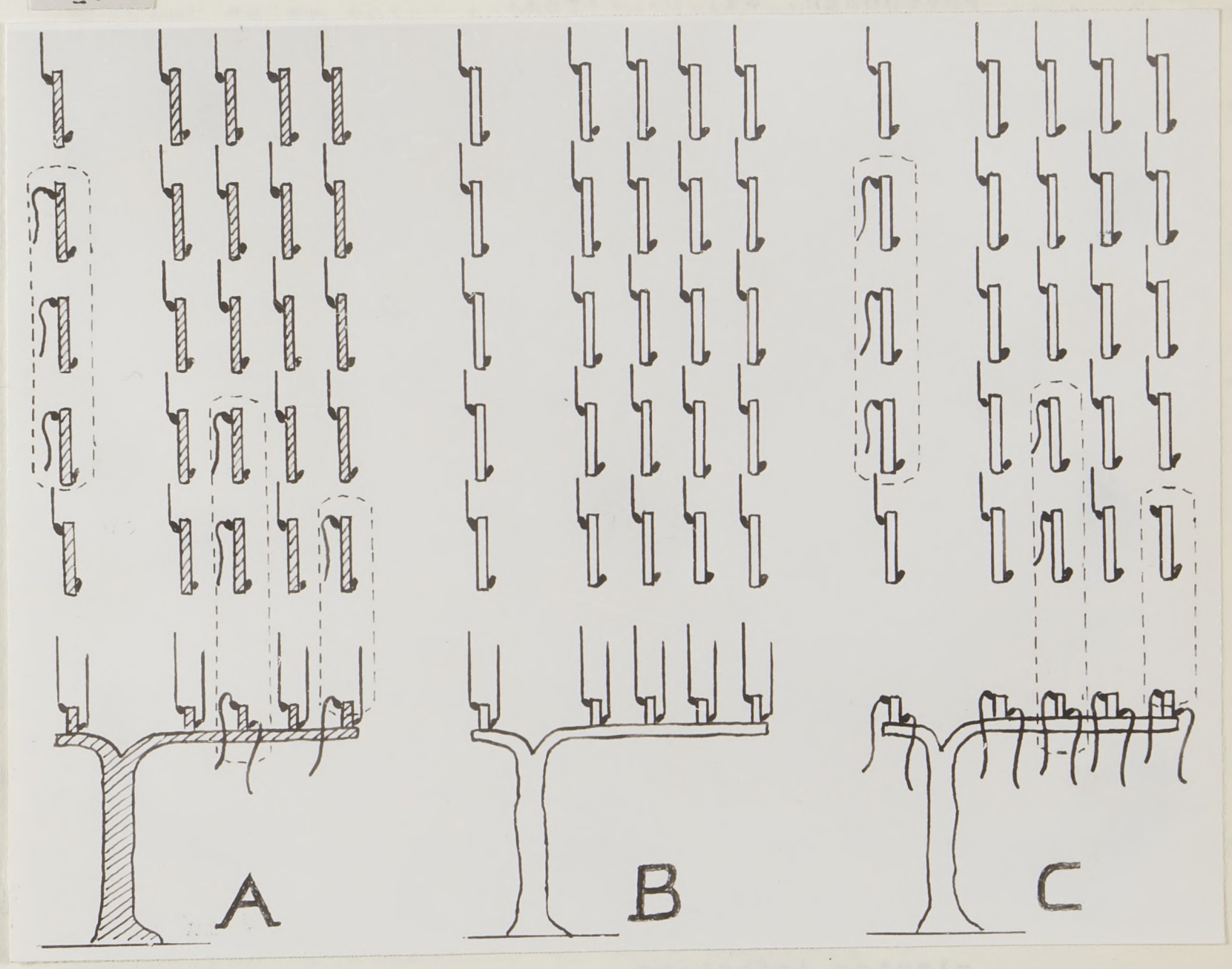
Cep rétabli, et boutures qui en proviennent.

Cep n'ayant encore présenté aucun symptôme de maladie.

Bourgeon donnant naissance à un rameau d'aspect sain.

Bourgeon donnant naissance à un rameau d'aspect malade.

Zônes"induites" au moment du prélèvement des boutures.



A - Cep rétabli.
Induction des symptômes localisée, maladie peu systémique.

B - Cep sain, resté sain dans l'année suivant le prélèvement des bois. Pas de symptômes.

C - Cep sain, tombé dn crise dans l'année suivant le prélèvement des bois.
Induction des symptômes localisée ; maladie très systémique.

B I B L I O G R A P H I E

-:-:-

I - CAUDWELL (A.) et OTTENWAELTER (M.) - I957 - Deux années d'études sur la flavescence dorée, nouvelle maladie grave de la vigne.
Ann. Amél. Plantes 7 ; 359-393.

2 - BENNETT(C.W.) - I944 - Latent virus of Dodder and its effect on sugar beet and other plants.
Phytopath. 34, p. 77-9I.

3 - BENNETT (C.W.) - I955 - Recovery of water pimpernel from curly Top and the reaction of recovered plants to reinoculation with different virus strains.
Phytopath. 45, p. 53I-536.

4 - EAST (E.M.) - I93I - Immunity to sugar cane mosaïc acquired by the host.
Proc. Nat. Acad. Sciences, I7, p. 33I-334.

5 - LESLEY (J.W.), WALLACE (J.M.) - I938 - Acquired tolerance to curly top in tomato.
Phytopath. 28, p. 548-553.

6 - PRICE (W.C.) - I936 - Virus concentrateion in relation to acquired immunity from Tobacco ring spot.
Phytopath. 26, p. 503-529.

7 - WALLACE (J.M.) - I944 - Acquired immunity from curly top in Tobacco and Tomato.
J. Agr. Res. U.S., 69, p. I87-2I4.

8 - CAUDWELL (A.), POITOU (N.) - I960 - Interration entre "court noué" et"flavescence dorée".
C.R. AC. Agr. 30 Nov. I960.

9 - LIMASSET (P.) - CORNUET (P.) - I949 - Recherche du virus de la mosaïque du Tabac dans les méristèmes des plantes infectées.
C.R. Ac. Sci., 228, p. I.97I-I.972.

-:-:-:-:-:-:-:-

ESSAIS D'EXTRATION DU VIRUS DE LA FLAVESCENCE DOREE

A. C A U D W E L L & N. P O I T O U

Le premier problème est de parvenir à extraire les protéines de la vigne .

Les méthodes préconisées en biochimie végétale ne concernent qu'un petit nombre de plantes : tabac, pomme de terre épinards.

Il est aisé de constater qu'un broyage des feuilles fraîches de ces espèces donne un jus dans lequel la présence des protéines est bien décelable. Le jus clair donne avec le Sulfate d'ammonium à demi saturation un précipité relativement abondant. Les réactions caractéristiques des protéines permettent de confirmer leur présence.

Il est impossible par contre de déceler la moindre trace de protéine dans les jus provenant du broyage de feuilles fraiches de vigne.

L'acidité des tissus de cette plante ne peut être seule mise en cause, car les extractions avec tampons ne donnent pas plus de résultats.

Il est dès lors possible de penser que les protéines du cytoplasme sont précipitées, au moment du broyage, par les tannins abondants dans les tissus de vigne.

Afin de résoudre ce problème, deux voies de recherches ont été suivies :

1) Essais d'extraction des protéines à l'aide de solvants spécifiques.

2) Recherche d'organes de la vigne exempts de tannins, ou essais de production artificielle de tels organes.

I. ESSAIS D'EXTRACTION DES PROTEINES A L'AIDE DE SOLVANTS SPECIFIQUES

D'après des études polonaises récentes (KATZENELLEN-BOGEN, DOBRYSZYCKA), la combinaison des protéines et des tannin serait parfaitement réversible.

Dans l'équilibre :

Protéines + tannins $\rightleftharpoons$ Protéine, tannins.

.../...

Les protéines seraient récupérées avec un rendement de 90 % par diminution de la concentration en tannins, ceux-ci étant précipités par la caféine.

La réversibilité de cette réaction pourrait permettre de travailler sur des feuilles de vigne fraîches, en présence d'un agent précipitant des tannins.

Plusieurs essais ont été déjà faits sans donner beaucoup de résultats.

Il nous a semblé préférable de tenter d'éviter la combinaison des tannins et des protéines en utilisant du matériel lyophilisé. Cette opération permet l'extraction de l'eau des cellules sans qu'il y ait à aucun moment présence dans une même solution du contenu des vacuoles (tannins, acides organiques) et des constituants du cytoplasme (protéines).

La congélation doit être basse et rapide afin d'éviter la formation de cristaux qui détruiraient la structure cellulaire. Elle peut être obtenue par trempage dans l'azote liquide. Ce procédé a l'inconvénient de refroidir de façon si intense qu'un matelas gazeux se forme entre le fluide et les feuilles, retardant ainsi leur refroidissement.

Le trempage dans un mélange de neige carbonique et d'alcool ne présenterait pas cet inconvénient. Le danger de cette dernière méthode est cependant plus grave : il réside dans le risque de dénaturation des protéines au contact de l'alcool, au cas où la température ne serait pas maintenue très basse jusqu'à la fin de l'élimination du solvant.

Notre matériel végétal a été lyophilisé par le Centre de dessiccation du plasma sanguin de Bordeaux (Docteur SERVANTI), par trempage dans le mélange de neige carbonique et d'alcool. La méthode à l'azote liquide, qui eût été préférable, n'a pu être appliquée, ce Centre ne l'utilisant pas.

Les feuilles de vigne ainsi traitées, puis mises en poudre contenaient les protéines et les tannins non combinés.

Notre but étant d'obtenir les protéines en solution, deux voies de recherches s'offraient à nous :

- l'utilisation d'un solvant des protéines ayant la propriété d'insolubiliser les tannins.

- l'utilisation d'un solvant des tannins capable de précipiter les protéines de façon réversible.

A) UTILISATION D'UN SOLVANT DES PROTEINES AYANT LA PROPRIETE D'INSOLUBILISER LES TANNINS :

Plusieurs essais ont été tentés en reprenant

.../...

notre poudre lyophilisée par des solutions d'alcaloïdes (nicotine, quinine, caféine), tamponnées ou non. Nous n'avons pu obtenir les protéines de la vigne en solution.

Il est possible que cet échec soit imputable à une élévation de la température avant l'élimination complète de l'alcool lors de la lyophilisation.

B) UTILISATION D'UN SOLVANT DES TANNINS CAPABLE DE PRECIPITER LES PROTEINES DE FACON REVERSIBLE

Plusieurs solvants remplissant ces conditions ont été essayés :

a) Les solutions de sulfate d'ammonium.
On pouvait penser que les tannins pourraient être épuisés par des lavages successifs avec des solutions de sulfate d'ammonium qui ont la propriété de précipitater les protéines de façon réversible. L'extraction des tannins, vérifiée à chaque lavage a paru très lente et cette méthode a été abandonnée.

b) L'alcool à basse température :
L'alcool est un bon solvant des tannins, mais dénature les protéines à température ordinaire. Cette propriété est cependant fonction de la température. Une technique de HARDY et GARNER destinée à purifier le sérum, a été adaptée au problème que nous nous posions.

La poudre des feuilles lyophilisée était déposée dans une cartouche de Soxhlet plongée dans de l'alcool éthylique à 96°, le tout étant refroidi en permanence à - 30°C. L'alcool est changé systématiquement, d'abord toutes les heures, puis à intervalles plus larges ; l'élimination des tannins, vérifiée à chaque renouvellement du solvant, était extrêmement lente à cette température.

Les tannins étant à peu près épuisés. Les échantillons sont débarrassés de leur alcool par de l'éther déshydraté au préalable à l'acide sulfurique ; la basse température est maintenue jusqu'à la disparition des dernières traces d'alcool. La substance sèche est alors reprise dans un tampon pH 8.

La plupart des essais ainsi conduits n'ont pas permis d'isolement des protéines de la vigne ; il y eût cependant doute dans un cas particulier.

Ces extractions ont été reprises en remplaçant l'alcool à 96° par des mélanges eau-alcool qui ne nécessitent pas une température aussi basse, mais elles ont dû être intérrompues.

2. RECHERCHE D'ORGANES DE LA VIGNE EXEMPTS DE TANNINS, OU ESSAIS DE PRODUCTION ARTIFICIELLE DE TELS ORGANES.

Les analyses faites des divers organes de la vigne ne révèlent que de fortes concentrations de tannins. Un travail de SCHANDERL (Mitt. Klost. A, 5, 1957, 229-245) étudiant la genèse des tannins dans les racines, les baies et les tumeurs de blessure des Vitacées, montrait cependant que celle-ci n'était pas immédiate.

Connaissant d'autre part le rôle de la photosynthèse dans l'élaboration des polyphénols, nous avons pensé que les jeunes cultures de tissus, développées à l'obscurité pouvaient être pauvres en tannins. Cette présomption fut vérifiée en partie, ces tissus n'en étaient pas abondamment pourvus. Il nous fut malgré tout impossible d'en extraire les protéines directement, ni en présence d'un tampon.

Les racines aériennes développées sur ces cultures de tissus furent elles aussi récoltées. Leur broyage frais ne livra aucune protéine. Par contre, en présence d'un tempon pH 8, ces racines broyées ont donné assez régulièrement de petits précipités de protéines en présence de sulfate d'ammonium.

Ce dernier résultat, le seul réellement positif, aurait dû être un point de départ de nouvelles recherches. Mais, c'est à ce moment (mars 1960) que nos recherches ont été suspendues par suite du changement annuel du technicien du laboratoire.

CONCLUSIONS

En vue d'isoler le virus de la flavescence dorée, l'extraction des protéines de la vigne a été tentée selon plusieurs méthodes.

Les meilleurs résultats ont été obtenus en utilisant des organes de vigne très pauvres en tannins : les racines poussées sur des cultures de tissus développées à l'obscurité.

Travail réalisé du 17/11/1958 au 28/2/1960.

-:-:-:-:-:-

RECHERCHES SUR LA TRANSMISSION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC PAR LES SEMENCES DE TOMATE ; VERIFICATION DE CETTE TRANSMISSION ET LOCALISATION DU VIRUS DANS LA GRAINE

-:-:-:-

M.T. C O U S I N

Sommaire

I. Vérification de la transmission du virus de la Mosaïque du Tabac par les semences de Tomate.

2. Localisation du virus de la Mosaïque du Tabac dans la graine de Tomate.

I°) Etude morphologique et anatomique de la graine de Tomate.

2°) Localisation du virus de la Mosaïque du Tabac dans les différentes parties de la graine situées à l'extérieur de l'embryon.

3°) Localisation du virus de la Mosaïque du Tabac à l'intérieur de l'embryon.

3. Action d'un détergent : le Teepol sur le virus de la Mosaïque du Tabac.

-:-:-:-

I. VERIFICATION DE LA TRANSMISSION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC PAR LES SEMENCES DE TOMATE.

La Transmission du virus de la Mosaïque du Tabac par les semences de Tomate a fait l'objet de nombreux travaux à l'étranger. Il importe en effet de savoir si la graine joue réellement le rôle de foyer de transmission d'une année à l'autre. En effet, un pourcentage de transmission même faible peut avoir une grande incidence pratique. Ces plantes infectées précocement seront des sources de virus au cours des manipulations, d'autant plus dangereuses qu'elles échappent souvent à l'observation visuelle.

CHAMBERLAIN (1950 : Australie) note un pourcentage de transmission de 2,73 % à partir de graines récoltées telles quelles. La transmission serait négligeable lorsque les graines sont extraites par fermentation ou en présence de H Cl commercial.

.../...

D'après CROWLEY (1957 : Australie) la transmission serait aussi négligeable, mais il ne précise pas le mode d'extraction des graines. Nous nous sommes donc proposée d'examiner à notre tour si cette transmission est bien réelle et dans quelles conditions elle a lieu.

Nous avons utilisé 2 lots de 150 graines chacun :

Lot A : Graines de Tomate "Marmande" récoltées telles cuelles sur des plantes inoculées précocement par le virus de la Mosaïque du Tabac. Ces graines étaient semées l'année de leur récolte.

Lot T : Témoin : Graines de Tomate "Marmande" sélectionnées par un établissement commercial. Ces graines ont été récoltées 2 ans auparavant sur des pieds d'apparence saine et extraites par fermentation. Ce témoin, s'il restait sain jusqu'au test final nous permettrait de vérifier que les contaminations accidentelles ont été évitées et que la graine est le seul facteur de transmission du virus dans le lot A.

Dans les 2 lots nous avons obtenu un taux de transmission de 2,5 à 3 %. Les résultats ne sont donc pas significatifs. Toutefois de nombreuses précautions avaient été mises en oeuvre pour éviter les contaminations accidentelles : terreaux et pots étaient stérilisés à l'autoclave. Les semis étaient effectués en place afin de supprimer toute manipulation. Nous avons donc formulé l'hypothèse que, dans les 2 cas la semence était un facteur possible de transmission du virus. Des inoculations à N. Xanthi de broyats de graines du lot T révèlèrent la présence du virus dans ces graines. Il importe donc de recommencer cet essai avec un lot témoin préparé par nous-mêmes. A cet effet, nous avons récolté des graines sur des plantes dont le bon état sanitaire a été vérifié lors de la récolte. Si nous parvenons à maintenir ce matériel indemne de virus jusqu'au test final, nous aurons l'assurance que les contaminations accidentelles ont été évitées. Si le lot A se révèle infecté, nous aurons vérifié la transmission du virus de la Mosaïque du Tabac par la semence de Tomate et nous pourrons chiffrer le taux de transmission.

2. LOCALISATION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DU TABAC DANS LA GRAINE DE TOMATE

Il importe de localiser le virus à l'intérieur de la graine :

- Si, comme l'affirment la plupart des auteurs, le virus de la Mosaïque du Tabac est transmissible par la semence, il convient de préciser le rôle des différentes parties de la graine dans la transmission.

.../...

- Si le virus est présent dans la graine, et si la transmission est négligeable, il sera intéressant d'étudier par quels procédés la jeune plante échappe à l'infection.

I°/ Etude morphologique et anatomique de la graine de Tomate :

La graine est constituée de l'extérieur vers l'intérieur par : (Photos).

- une gaine mucilagineuse entourant complètement la graine que l'on élimine par différents procédés : traitement à la pectinase, fermentation, traitement aux acides : (Photo I).

- un tégument dur constitué de poils raides.(Photo 2).

- l'embryon entouré d'un albumen peu abondant.(Photo 3).

Nous avons inoculé mécaniquement les différentes parties de la graine à N. Xanthi.

2°/ Localisation du virus de la Mosaïque du Tabac dans la gaine mucilagineuse et le tégument :

Nous avons décelé la présence du virus :

- dans l'anneau mucilagineux entourant la graine : 100 % d'anneaux mucilagineux sont contaminés.
- à l'intérieur même des téguments : 85 % des téguments sont contaminés.

Ces téguments ont été isolés par des coupes longitudinales passant par le micropyle de graines extraites à la pectinase, donc dépourvues de leurs gaines mucilagineuses hydrolysées par cette diastase. Les téguments, débarrassés de leur contenu sont ensuite lavés au Teepol à 10 %, rincés abondamment, laissés sécher, puis inoculés à N. Xanthi.

Il importe désormais d'étudier le mode de transmission du virus présent dans ces parties externes (gaine mucilagineuse et tégument) à la jeune plantule. S'agit il d'une contamination mécanique ? Nous nous proposons donc de réaliser des inoculations mécaniques de jeunes plantules à différents niveaux : Cotylédons, 1 ères feuilles, tigelles; avec du jus de Mosoïque du Tabac de dilutions différentes ; puis de rechercher la présence du virus dans les plantes inoculées.

Il se pourrait en effet que la jeune plante soit contaminée mécaniquement par les parties externes de la graine au cours de la germination épigée. D'autre part, il arrive fréquemment que les enveloppes de la graines viennent s'appliquer sur les différentes parties de la plante : tigelle, cotylédons, 1ères feuilles. Les poils raides du tégument semblent particulièrement favorables à l'inoculation.

.../...

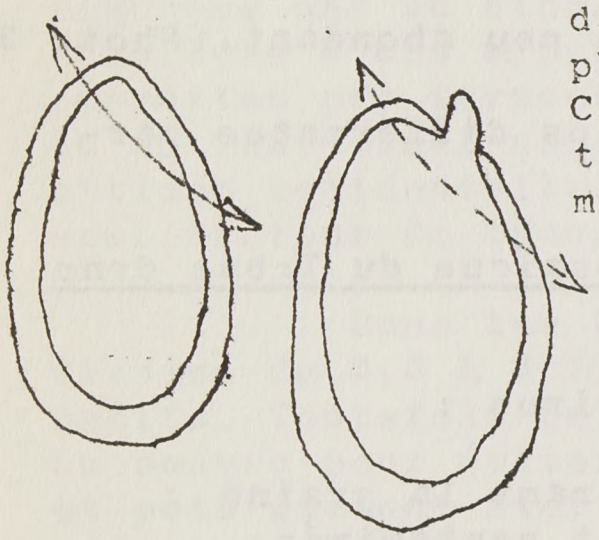
3°/ Etude de différentes techniques de dissection de l'embryon et recherche du virus de la Mosaïque du Tabac à l'intérieur de celui-ci :

Nous avons essayé différentes techniques de dissection de la graine en cours de conservation :

a - Coupe longitudinale passant par le micropyle de la graine entière hydratée.

b - Extraction de l'embryon par pression de graine entière hydratée.

Les graines entières sont fendues au niveau du micropyle. On les laisse tremper une journée dans l'eau, puis à l'aide d'une aiguille plate on extrait l'embryon par pression. Ces embryons sont placés 3h. dans une solution de Teepol à 10 %, puis rincés abondamment.



c - Coupe longitudinale, à l'état sec, passant par le micropyle, de la graine décapée (c'est à dire dépourvue de son anneau mucilagineux).

L'anneau mucilagineux entourant la graine a été hydrolysé par la pectinase (1 gr./1 : 24 h.). On élimine ainsi une source importante du virus de la Mosaïque du Tabac. La dissection avait lieu à sec pour éviter le transport du virus vers l'intérieur de la graine au cours du trempage. On effectuait une coupe longitudinale de la graine, puis on extrayait l'embryon par grattage. L'embryon est moins altéré par ce processus de dissection que par pression avec une aiguille plate. Ces embryons étaient ensuite placés 3 h. dans une solution de Teepol à 10 %, puis rincés abondamment.

Nous avons obtenu les résultats suivants à partir de graines de Tomate : "Marmande" récoltées sur des plantes inoculées précocement en cours de végétation :

% d'embryons infectés :	Extraction	
	1 :	100 %
	2 :	58 %
	3 :	7 %

Nous sommes donc frappée par l'extrême divergence de ces résultats : ce qui semble en accord avec les données de la bibliographie. D'après BERKELEY et MADDEN, 100 % des embryons seraient infectés, alors que d'après CROWLEY le virus

.../...

de la Mosaïque du Tabac ne serait jamais présent dans les embryons de graines de Tomate. Les embryons sont très facilement contaminés par les parties externes de la graine. Aussi importe-t-il de les disséquer le plus aseptiquement possible. Nous remarquerons ici la présence du virus de la Mosaïque du Tabac dans 7 % des embryons disséqués le plus aseptiquement possible. Le virus pré-existait-il dans l'embryon avant la dissection ou l'avons nous introduit au cours de la dissection malgré les précautions citées ? Nous n'avons pas actuellement de données suffisantes pour conclure définitivement. Nous n'avons jamais obtenu de cas où, à partir d'une même graine, l'inoculation des téguments se révèle négative, alors que celle de l'embryon était positive. Dans ce cas, en effet, il ne pourrait s'agir d'une contamination accidentelle de l'embryon par les parties externes. Nous nous proposons donc de recommencer cet essai à plus grande échelle et de rechercher la présence du virus dans de jeunes plantules. En effet, si le virus peut infecter l'embryon et être transmis à la jeune plantule, seule la sélection sanitaire avec contrôle des plantes à la récolte, permettra d'affirmer le bon état sanitaire des graines.

3. ACTION DU TEEPOL :

Le lavage des embryons au Teepol à 10 % nous a conduit à étudier l'action du Teepol sur le virus de la Mosaïque du Tabac. Trois hypothèses sont à envisager, ce produit peut agir comme :

(- inactivateur : Il dénature le virus in vitro.
)
(- inhibiteur d'infection. Il empêche la pénétration
) du virus dans la plante.
(
) - inhibiteur de multiplication ; le produit pénètre
(dans la plante et entrave la multiplication du virus.

Il importe pour la recherche du virus dans l'embryon, que le Teepol soit sans action sur le virus présent à l'intérieur des tissus. C'est ce que nous nous sommes proposée de vérifier.

Nous avons utilisé de jeunes Tabacs infectés par le virus de la Mosaïque du Tabac. Les essais furent effectués sur les 1ères feuilles, afin de travailler sur des organes très voisins de l'état embryonnaire.

On répartit ces jeunes feuilles en 2 groupes :

- lot 1 témoin
- lot 2. Les jeunes feuilles sont immergées 3h. dans une solution de Teepol à 10 %, puis rincées abondamment.

On inocule chaque lot à N. Xanthi. On obtient les résultats suivants :

- Lot 1 : 128 lésions
- Lot 2 : 120 lésions

..../....

Le résultat obtenu pour le lot 2 est donc très voisin de celui du lot témoin. L'action du Teepol en profondeur est donc négligeable ou nulle.

Action du Teepol à IO % sur le virus de la Mosaïque du Tabac :

Pour étudier l'action du Teepol à IO % sur le virus de la Mosaïque du Tabac, nous avons extrait le jus d'un tabac (N. Samsum) fortement mosaïqué. Nous avons dilué ce jus.

dans l'eau	dilutions (Colog des dilutions)	IO -1 1	IO -2 2	IO -3 3	IO -4 4	IO -5 5	IO -6 6
dans le Teepol à IO %	dilutions (Colog des dilutions).	1/2 0,30103	1/5 0,69897	I/IO 1	I/20 I,30103	I/40 I,60206	I/80 I,90309

Après un séjour de 3h. à la température du laboratoire, nous avons inoculé ces solutions à N. Xanthi et compté le nombre de lésions obtenues.

On utilise pour cet essai la méthode du carré latin. On dispose d'autant de N. Xanthi que de dilutions à étudier. Les N. Xanthi ont été semés en même temps et cultivés dans les mêmes conditions. Le nombre de feuilles sur chacun d'eux est au moins égal au nombre de dilutions à étudier. On compte sur chaque feuille le nombre de lésions apparues et on effectue une moyenne correspondant à chaque dilution. On obtient les résultats suivants:

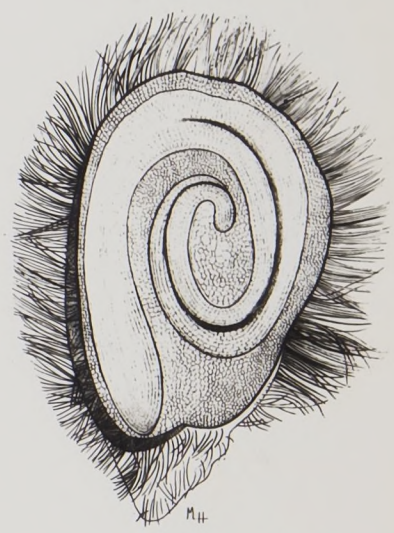
Jus de Mosaïque du Tabac pur : 200 lésions.

Dilution dans l'eau	Colog de ces dilutions	Nbre de lésions sur N.Xanthi
IO^{-1}	I	3IO
IO^{-2}	2	I40
IO^{-3}	3	I25
IO^{-4}	4	50
IO^{-5}	5	27
IO^{-6}	6	9

.../....

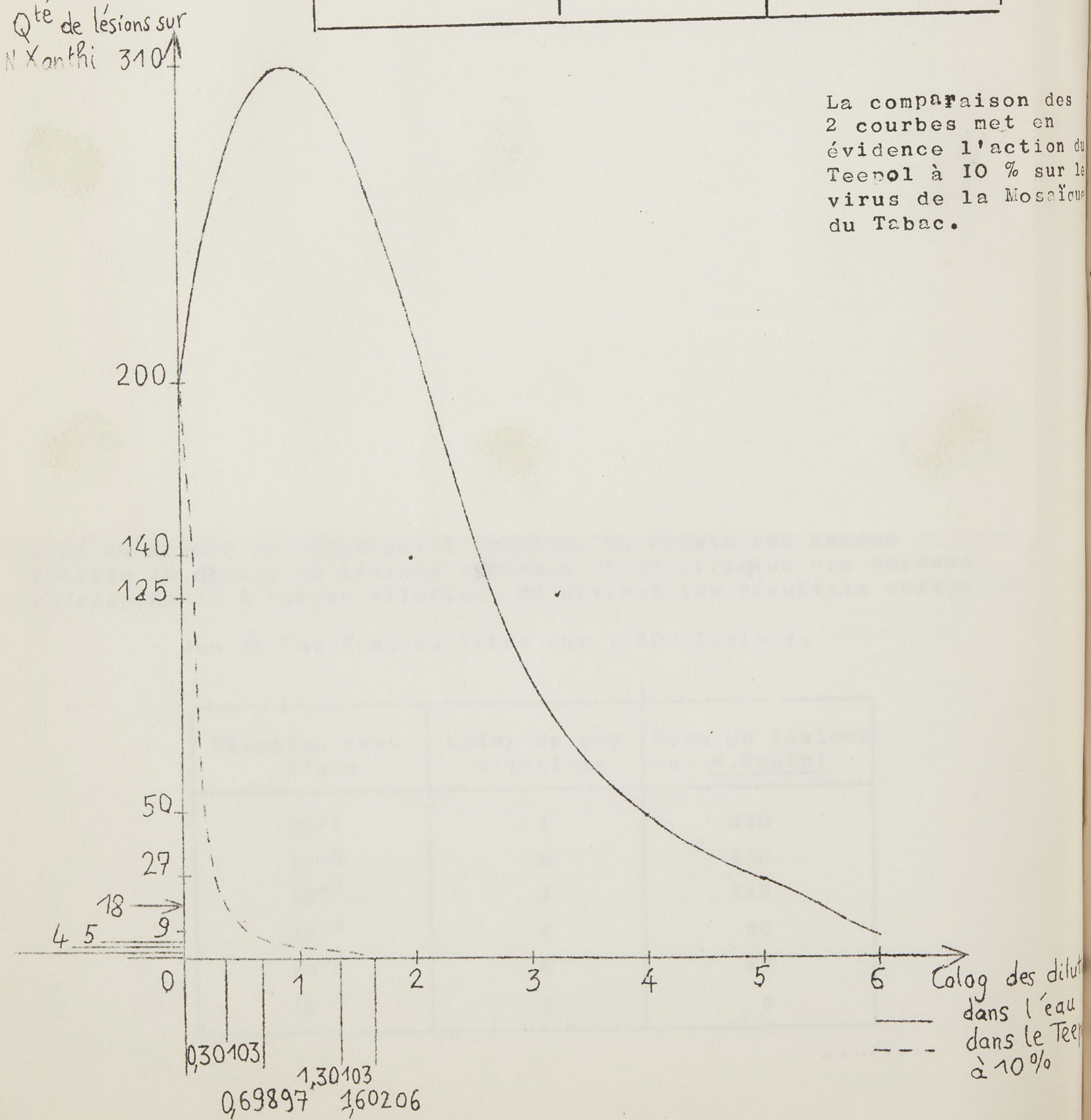
1

2



3

Dilutions dans le Teepol à 10%	Colog de ces dilutions	Nbr. de lésions sur N.Xanthi
I/2	0,30103	18
I/5	0,69897	5
I/10	1	4
I/20	1,30303	I
I/40	1,60206	0
I/80	1,90309	0



La comparaison des 2 courbes met en évidence l'action du Teepol à IO % sur le virus de la Mosaïque du Tabac.

TRANSMISSION DU VIRUS DE L'ENROULEMENT DE LA POMME DE TERRE PAR "ELECTRO - INOCULATIONS"

P. C O R N U E T , D. S P I R E , J. Q U E M E N E R

-:-:-:-

Pour le virus de la mosaïque du tabac, nous avons montré que le pouvoir infectieux se présentait dans la plante sous deux formes : la forme complète représentée par la nucléoprotéine classique et la forme acide nucléique libre.

Il est vraisemblable que l'A.R.N. (acide ribonucléique) libre représente l'état sous lequel le virus se multiplie et envahit la plante tandis que la nucléoprotéine serait la forme de conservation. Quoiqu'il en soit on peut imaginer que certains virus prédominent sous un état plus que sur l'autre. Les échecs d'isolement du virus de l'Enroulement de la Pomme de terre par exemple, tirent leur origine de ce fait. Si ce virus se trouvait essentiellement sous la forme acide nucléique libre, il est évident que les méthodes d'extraction des protéines ne peuvent convenir à son isolement.

Nous avons donc essayé d'appliquer à l'extraction et à la transmission du virus de l'Enroulement des méthodes d'acide nucléique.

La méthode au Phénol décrite par GIERER et SCHRAMM est très efficace pour libérer l'A.R.N. de son complexe avec la protéine virale, elle a permis d'isoler l'A.R.N. infectieux de nombreux virus. Nous l'avons utilisée dans le cas de l'Enroulement sans succès.

Si d'ailleurs l'A.R.N. infectieux est bien libre, dans le cas de l'Enroulement il n'est pas nécessaire d'avoir une méthode qui le libère de la protéine, mais il serait plus utile par exemple de pouvoir le récupérer suffisemment vite pour limiter sa destruction par la ribonucléase.

Utilisant la méthode mise au point dans ce but pour extraire l'A.R.N. du virus de la Mosaïque du Tabac, nous avons réussi à transmettre le virus de l'Enroulement à partir de feuilles de Pomme de terre infectées à des Pommes de terre saines et à des Physalis floridana.

Rappelons brièvement la méthode électrophorétique de récupération de l'A.R.N. infectieux (P.COMNUET,D.SPIRE, C.R. Académie Sciences, 250, p. 1843-1844).

.../...

Des disques de feuilles de Pomme de terre infectés par le seul virus de l'Enroulement sont congelés à -20°C, puis placés dans une coupelle de gélose tamponnée au pH 4,3 ; la coupelle débouche sur une feuille de la plante à inoculer. La feuille est étalée sur une plaque métallique en liaison avec l'anode, la cathode en platine est placée dans la coupelle au dessus des disques. Les différents éléments sont mouillés de tampon pour réaliser la continuité électrique. L'électrophorèse est conduite sous IO V ; I,2 mA cm^2 pendant 2 périodes de I5 minutes, servant à inoculer 2 feuilles de la plante saine.

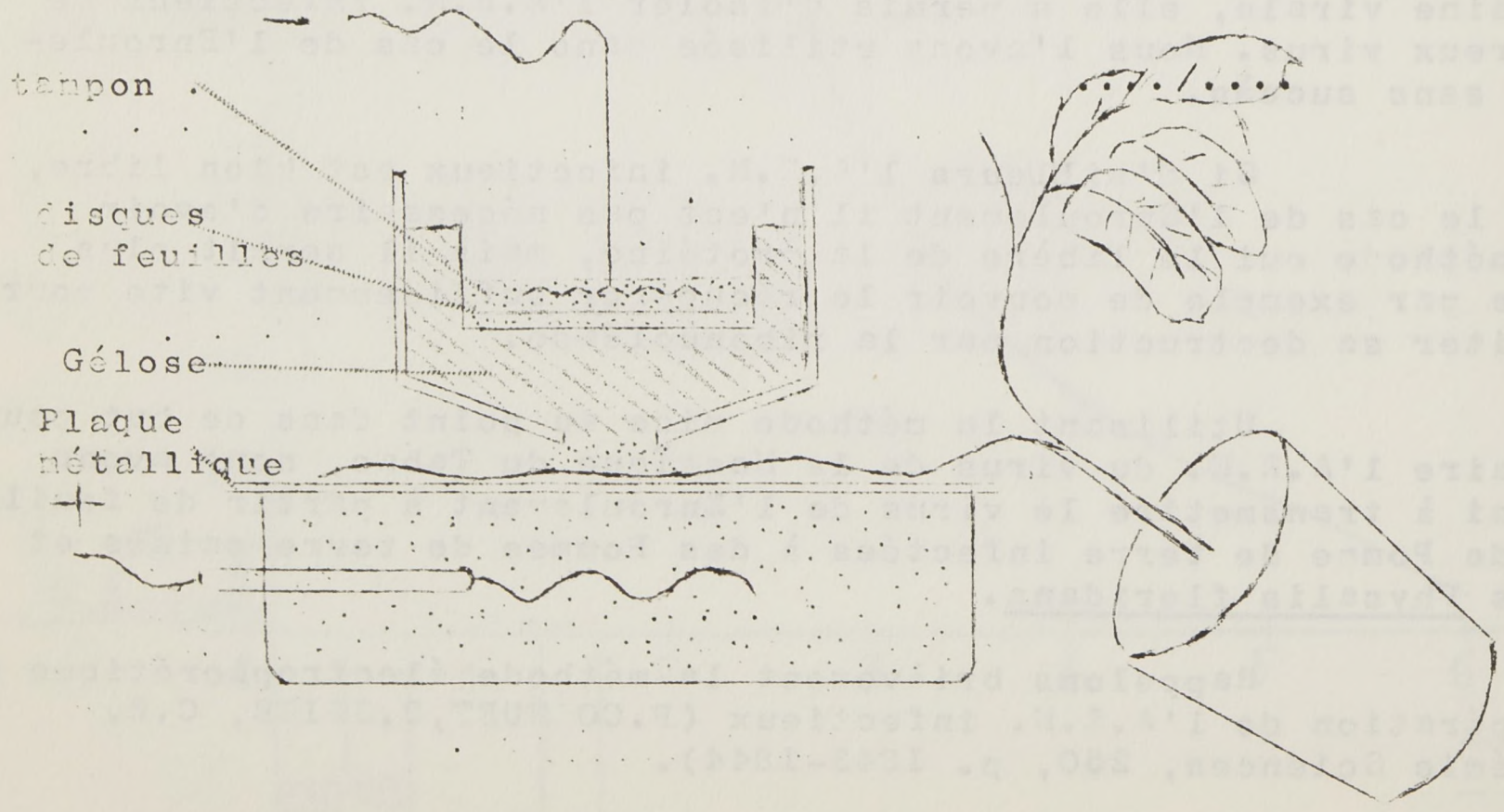
Une série d'inoculations, par cette méthode a été réalisée du I2 au 20 Décembre I960 à la Station de St GERMAIN.

Dans tous les cas, l'inoculation était constituée par un prélèvement de feuilles sur plante de pomme de terre présentant les symptômes caractéristiques du virus de l'Enroulement, au stade d'évolution complète : jaunissement, feuilles enroulées, dépôts anthocyaniques sur le feuillage. Une seule des plantes inoculantes a été choisie avec des symptômes bénins.

Les plantes porteuses du virus de l'enroulement appartenaient à 4 variétés de pomme de terre : 5 Bintje adultes, 1 Bintje jeune (symptômes bénins) ; 2 Claudia ; I Bea ; 1 Ultimus.

Les plantes inoculées appartenaient aux variétés BINTJE et CLAUDIA (soit 38 BINTJE et 6 CLAUDIA).

Les différentes données de cet essai sont consignées dans le tableau ci-contre.



Inoculum	Plantes inoculées	Nbre	Nbre Inocu. positives	Nbre inocu. négatives	Observations
Bintje adu. E 3	Bintje 58 jours	4	0	4	I feuille en godet sur 1 plante.
E I	Bintje 44 jours	8	2	6	jaunissement, anthocyane sur les 2 pl. positives
E 2	46 jours	9	0	9	
Claudia E I C	48 jours	I	0	I	2 feuilles en forme de cuiller.
E I C	48 jours	I	0	I	maturation rapide de la plante inocu.
B E A E I B	51 jours	3	0	3	3 plantes ont élaboré des feuilles en forme de cuiller la 3° a muri très rapidement.
Ultimus E I U jeune	51 jours	3	I	2	accumulation anthocyanique foliaire accentuée.
Bintje jeune E j	51 jours	3	3	0	jaunissement anthocyane sur les plante
Bintje adulte E 4	52 jours	3	0	3	1 plante présente 1 feuille en cuiller
E 5	52 jours	3	0	3	maturité rapide dans les 3 cas.
		38	6	32	
Claudia E 2 C	Claudia 56 jours	3	0	3	2 plantes manifestent un jaunissem. sur feuille nouvel. et prennent un port érigé, avec feuil. en cuiller.
E 3 C	56 jours	3	0	3	même obs. pour 2 plantes sur 3.
		6	0	6	

.../...

Ce tableau fait apparaitre une proportion d'inoculations réussies peu élevée.

- Il y a lieu de noter cependant que l'inoculation à partir d'Ultimus et de Bintje enroulée jeune s'est révélée la plus efficace.

- Dans ces cas, les plantes de Bintje inoculées provenaient du même lot, identifié par l'âge : 5I Jours - mais par la suite il est apparu que la définition de l'âge en nombre de jours après la plantation n'avait qu'une valeur relative, celle-ci pouvant varier intensément d'une plante à l'autre.

- En réalité, n'ont été considérées comme positives que les inoculations exprimées par des symptômes traduisant en général une forte attaque par le virus de l'enroulement, c'est à dire l'accumulation d'anthocyanes à l'extrèmité et sur le pourtour des feuilles, survenant après un jaunissement caractérisé de ces mêmes feuilles.

- Or, les dernières observations faites le I7 Février, font apparaitre, en variété BINTJE, que 7 plantes seulement sur les 38 inoculées présentent encore un feuillage vert. Les autres plantes sont praticuement désorganisées à cette date.

- Les 6 inoculations positives concernent précisément 6 des 7 plantes encore vertes.

- En variété CLAUDIA, l'évolution est plus lente, et les nombreux symptômes primaires observés ne sont pas suffisants pour considérer l'inoculation comme réalisée.

-:-:-:-:-:-:-:-

LE TREFLE VIOLET, RESERVOIR DE PLUSIEURS VIRUS

J.C. D E V E R G N E

La lutte contre les virus des cultures légumières ne saurait être que préventive, et les moyens mis en oeuvre pour éviter les contaminations semblent devoir s'envisager de trois manières différentes : au niveau de la plante, par la recherche de variétés résistantes, problème qui est du domaine du généticien, lors de la transmission des virus par les insectes vecteurs par l'application judicieuse d'insecticides ; enfin, à la source même du virus, par la suppression des réservoirs naturels lorsque celle-ci est possible, ou par l'isolement des cultures. Dans ces derniers cas, c'est dans la connaissance du cycle biologique du virus qu'il faut trouver les solutions, ce à quoi s'appliquent les virologistes et les zoologistes.

Nous avons essayé de préciser, pour notre part, les données relatives aux plantes hôtes susceptibles de conserver les virus pendant la période hivernale et, dans cet ordre d'idée, on avait signalé l'importance que pouvait jouer le trêfle blanc, Trifolium repens, L, dans la perpétuation du virus de la mosaïque jaune du haricot (virus 2), représenté notamment chez cette plante par une souche à caractère nécrotique.

Des expérimentations effectuées en serre, ou sous cage "insect proof" ont été réalisées cette année à partir d'un matériel un peu différent : nous avons en effet, choisi le trêfle violet, Trifolium pratense, L, comme point de départ de ces essais et ceci pour plusieurs raisons :

I°) ce trêfle est une des espèces les plus répandues, donc il risque d'être un important réservoir de virus.

2°) on a fréquemment observé sur le trêfle violet des symptômes divers, apparemment révélateurs de la présence de virus.

3°) la littérature étrangère nous a déjà donné à plusieurs reprises des exemples où le trêfle hébergeait en effet des virus, graves pour les cultures légumières avoisinantes.

Les symptômes sur le trêfle violet sont très variables : ils vont du simple éclaircissement des nervures, "vein clearing", à la mosaïque nécrotique avec rabougrissement notable de la plante. A priori, il semblait illusoire de vouloir rappor-

.../...

ter à chaque type de symptôme observé, un virus responsable pouvant être identifié par ce symptôme ; en effet, travaillant avec une population très hétérogène, il fallait compter avec les modes de réaction particulières à chaque individu ; par ailleurs, on sait que beaucoup de virus de légumeuses se manifestent sur une même plante par des réactions voisines ; enfin, nous n'étions pas à l'abri des complexes, ce que les résultats obtenus nous ont par la suite confirmé.

Le but envisagé n'était pas, d'autre part, l'étude proprement dite des virus hébergés par ce trêfle, dont beaucoup pouvaient être connus en France par leurs dégâts sur les autres légumineuses, mais de caractériser seulement leur nature et par là de voir le rôle effectif du trêfle violet dans leur conservation.

Plusieurs virus ont été ainsi reconnus :

I°) Certains d'entre eux, n'infectent pas le tabac et donnent des symptômes à la fois sur les haricots et sur les pois (plusieurs variétés testées). La fève réagit également. Ces virus ont été classés dans le groupe des virus de la mosaïque jaune du haricot.

Le virus type a été retrouvé, ainsi que deux souches particulièrement bien individualisées : la souche "nécrotique" qui avait été précédemment isolée à partir de trêfle blanc, et une souche "déformante" reconnaissable aux manifestations qu'elles amènent chez les haricots inoculés, appartenant aux variétés résistantes au virus de la mosaïque commune (virus I du haricot). En particulier, la variété "Contender" réagit à l'inoculation par des déformations foliaires, boursouflures et cloques, accompagnant une mosaïque et surtout par un rétrécissement des jeunes folioles qui, dans certains cas deviennent presque filiformes. L'affection pourrait être prise pour une virose occasionnée par le virus 1 de la mosaïque commune, s'il s'agissait d'une variété sensible à ce virus.

Toutes les souches du virus 2 du haricot infectent la fève qui montre une forte mosaïque avec, lorsqu'il s'agit de la souche nécrotique, une bigarrure des tiges (streak) et parfois mort de l'apex.

2°) D'autres isolements issus de trêfle violet n'infectent pas le haricot, mais donnent une virose sur le pois qui se manifeste ou bien par une mosaïque plane du type "vein banding", zones vertes le long des nervures, ou bien par un très net rabougrissement des plantes malades.

Dans le premier cas, le virus peut être identifié au virus de la mosaïque commune du pois (virus 2 du pois) ; il donne une mosaïque analogue sur la fève. Dans le second cas, le rabougrissement est occasionné par le virus de la mosaïque des nervures du trêfle violet (red clover vein mosaïc virus") ; le virus a été retransmis à plusieurs espèces de trêfles : il s'y manifeste toujours par un simple éclaircissement des nervures, sans jamais provoquer de marbrure ou de mosaïque.

. . . . . .

3°) Une réaction intéressante est à signaler à propos du virus de la mosaïque commune du pois. Nous avons transmis la souche obtenue au Chenopodium amaranticolor, plante test qui a été fréquemment utilisée pour caractériser plusieurs virus différents ; elle réagit en effet très facilement, soit par lésions locales, soit par affection systémique . La réaction du Ch. amaranticolor a été obtenue à partir d'extraits infectieux provenant de trêfle, de pois et de fève. Les symptômes sont systémiques ; ils apparaissent tout d'abord comme des tâches claires, arrondies, à contour toutefois diffus ; puis ils évoluent dans le sens nécrotique : il y a alors brunissement marginal des tâches, plus net près des nervures de la feuille ; la nécrose gagne la nervure, la suit et le limbe apparait chlorotique souvent sur une moitié seulement ; les feuilles les plus jeunes sont très atteintes et déformées. Les feuilles de la base et les feuilles moyennes tombent prématurément ; la plante ne montre plus alors qu'une tige dénudée avec une rosette de feuilles terminales atrophiées ; elle meurt souvent à brève échéance.

La gravité de la réaction s'éloigne des symptômes habituels qui ont été décrits sur ce Chenopodium pour le virus type de la mosaïque commune du pois.

Par contre, elle s'apparente à la réaction de la plante vis à vis de la mosaïque de la luzerne ; en aucun cas, cependant, en ce qui nous concerne, nous n'avons pu isoler ce dernier virus des extraits utilisés.

4°) A côté de ces virus que l'on sait exister en France, et dont la présence chez le trêfle violet pouvait être soupconnée, on a isolé également un virus infectant le tabac et dont les caractéristiques symptômatologiques semblent l'apparenter au virus du "streak", jusqu'alors non signalé en France.

Sur le Nicotiana tabacum, et le tabac Xanthi, il apparait sur les feuilles inoculées de petits arcs nécrotiques blanchâtres, brisés, quelquefois en anneaux concentriques ; la réaction reste diffuse ; l'extériorisation des symptômes systémiques est très capricieuse ; les feuilles qui se développent semblent saines, puis certaines d'entre elles développent brusquement des nécroses identiques à celles des feuilles inoculées ou plus graves ; les lignes nécrotiques se disposent alors le long des nervures, en faiseaux parallèles, plus nombreuses sur une moitié de la feuille qui se chlorose. Ce faciès est très caractéristique de celui décrit à propos du streak du tabac. Sur le Nicotiana glutinosa, il se développe une marbrure diffuse systémique légèrement déformante ; cependant sur les feuilles de la base, un ring spot tardif, mais très net, apparait environ trois semaines après l'inoculation ; les feuilles sont également jaunes et cassantes. Sur le tabac Kentucky enfin, un faciès du type "oak leaf", en feuille de chêne est quelquefois observé.

Le virus infecte le haricot qui réagit par des symptômes à la fois locaux et systémiques. Les lésions locales sur feuilles cotylédonnaires sont ou bien des tâches arrondies, très petites, ou bien des plages nécrotiques localisées préférentiellement près de la nervure principale, à la naissance des nervures secondaires de la foliole. Dans les deux cas, il s'agit d'une nécrose brun-rougeâtre des petites nervures de la plante ; le tissu à cet endroit parait gaufré ; ces manifestations sont surtout visibles à la face inférieure des feuilles. .../...

Par ailleurs, la réaction systémique est une nécrose généralisée de la plante qui peut être très brutale (IO à I2 jours).

Ces nécroses du haricot sont différentes des lésions occasionnées par les souches de la mosaïque de la luzerne, dont certaines, on le sait, sont également systémiques ("alfalfa Yellow mosaïc"). Par contre, on peut penser à des réactions décrites aux U.S.A. sur le haricot occasionnées par le virus du Red node. Or, ce virus est une souche du virus du streak du tabac. Rien d'étonnant du reste, à retrouver ce virus présent naturellement sur une légumineuse, puisque certains auteurs étrangers en ont également isolé une souche à partir du pois.

5°) Au cours des inoculations répétées en serre, nous avons retrouvé à plusieurs reprises le virus de la mosaïque du tabac qui semblait provenir d'extraits de trêfles mosaïqués. L'hypothèse d'une contamination accidentelle, d'abord envisagée, semble ne devoir pas être retenue, car les lésions caractéristiques sur les tabacs Xanthi, Kentucky et le N. glutinosa ont été obtenues plusieurs fois alors que toutes précautions étaient prises pour éviter un apport accidentel quelconque.

Nous ne saurions cependant être affirmatif car les lésions ont été obtenues d'une manière irrégulière et toujours en nombre très faible ; il est vrai que ceci pourrait s'expliquer par le fait que si le virus existe dans le trêfle violet, il ne s'y trouve qu'en très faible concentration ; par ailleurs, l'obtention des lésions locales était souvent liée à l'apparition des symptômes du streak ; les lésions attribuées à la mosaïque du tabac ont naturellement été reprises et la présence de particules caractéristiques et infectieuses a été confirmée.

6°) Il ne fait aucun doute que le trêfle violet est capable de servir de réservoir à un grand nombre de virus.

Nous avons indiqué que le virus de la mosaïque du tabac pourrait s'y trouver ; ceci élargirait encore la gamme des hôtes de ce virus et pourrait expliquer peut être certains aspects encore méconnus de sa propagation dans la nature.

Le virus du streak du tabac n'avait pas été signalé en France. Il parait donc intéressant de le faire ici, bien qu'il soit probable qu'il n'ait pas, pour l'instant du moins, une importance économique digne d'intérêt, on ignore comment il se transmet.

Nous insisterons surtout sur les virus dits " des légumineuses", en ce sens qu'ils sont responsables de maladies graves sur les plantes cultivées :

- les virus de la moaïque jaune du haricot
- le virus de la mosaïque des nervures du trêfle violet
- le virus de la mosaïque commune du pois.

existent sans doute chez plusieurs espèces de légumineuses spontanées ou cultivées, leur présence passe souvent inaperçue de fait que les symptômes sur ces plantes sont peu spectaculaires ou même parce que l'on ne se préoccupe pas assez "des espèces sauvages".

.../...

En prenant comme exemple le trêfle violet, nous espérons attirér l'attention une fois de plus sur le problème des plantesréservoirs ; ce qui nous permet , sans préconiser de règles précises qui ne sauraient être valables sur le plan local, d'encourager les producteurs à veiller dans la mesure du possible, à la protection de leurs cultures vis-à-vis de ces foyers primaires d'infection.

-:-:-:-:-:-:-

PROPRIETES ET ISOLEMENT DU VIRUS DE LA TACHE JAUNE DU CRESSON (Nasturtium officinale R. BR)

D. S P I R E

-:-:-:-

Il existe actuellement dans la région parisienne deux viroses pour lesquelles le cresson est un hôte particulièrement sensible.

Nous avions en 1960 rapporté le virus de la marbrure du cresson à celui décrit par TOMLINSON en Grande-Bretagne et inoculé sans difficulté majeure la maladie à diverses plantes dont Hesporis matronalis, Lunaria annua, Capsella-bursa pastoris et Chenopodium quinoa.

Une seconde virose, non décrite encore à l'étranger, attirait aussi notre attention par son extension rapide dans les cressonières de l'Oise et de Seine et Oise. Il s'agit de la maladie des taches jaunes dont l'étude est poursuivie ici avec la description des symptômes sur de nouveaux hôtes et l'observation des particules infectieuses.

I. SYMPTÔME DE LA MALADIE SUR LE CRESSON :

La maladie se manifeste essentiellement par temps froid et provoque sur le cresson des taches, d'abord translucides, puis jaune vif, et enfin de type "ring spot", nécrotiques sur leur pourtour. Ces taches peu nombreuses au début, se généralisent à toute la plante donnant au cresson un aspect maladif très accusé.

Nous avons montré en 1960 combien la température jouait un rôle particulièrement important sur l'extériorisation des symptômes, une hausse de température de quelques degrés suffisait à faire disparaitre tout symptôme sur les nouvelles pousses.

C'est une des raisons pour laquelle la conduite de l'étude de ce virus est malaisée, car aucun symptôme n'apparait en serre, ni en pleine terre pendant l'été.

Nous avons recherché alors d'autres plantes susceptibles d'héberger le virus. Là encore, la concentration faible du virus et des inhibiteurs nous en ont empêché et il a fallu pour trouver de nouveaux hôtes concentrer et purifier le virus

..../....

auparavant. Nous avons alors trouvé quelques plantes pour lesquelles l'apparition des symptômes semble indépendant de la température.

2. SYMPTÔMES DE LA MALADIE SUR QUELQUES NOUVEAUX HÔTES :

Toutes les tentatives d'inoculation mécanique de jus concentré et purifié à d'autres crucifères que le cresson, ont pour l'instant échoué. Il ne semble pas que le virus appartienne aux grands groupes classiques des viroses de crucifères.

Seules des plantes de la famille des Solanées et des Chenopodiacées ont réagi à l'inoculation.

Chenopodium quinoa réagit par des lésions locales, d'abord jaunes puis nécrotiques, trois jours après l'inoculation. La maladie ne devient pas systémique.

Chenopidium Amaranticolor réagit par de petites lésions nécrotiques de la taille d'une pointe d'épingle.

Chenopodium Murale présente de grosses lésions nécrotiques grises sur les feuilles inoculées.

Parni les solanées seul Petunia hybridum a réagi aux inoculations en formant sur les feuilles inoculées des lésions nécrotiques en anneaux.

Les Nicotiana divers (Tabacum, Rustica, Sylvestris Glutinosa) sont restés sans symptôme à l'exception de Nicotiana Debueyi, qui, après avoir réagi localement par de grandes taches jaunes diffuses, a développé par la suite une mosaïque jaune généralisée.

3. CONCENTRATION ET ISOLEMENT DU VIRUS :

Le virus des taches jaunes du cresson a pu être concentré et obtenu sous une forme purifiée à partir de jus de cresson naturellement infecté.

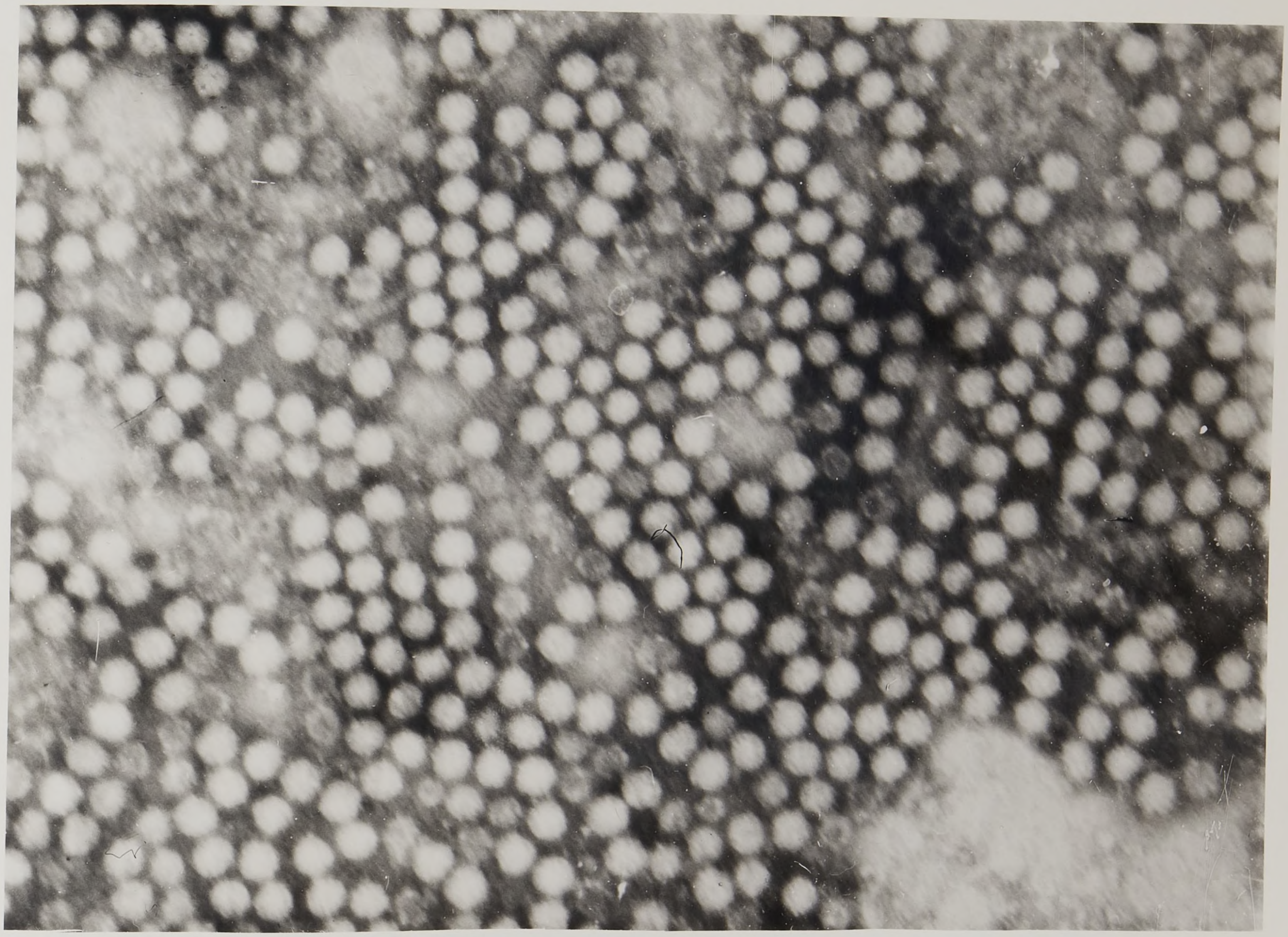
Pour cela, nous avons utilisé une méthode d'ultracentrifugation en milieu aqueux. Les feuilles de cresson sont congelées, puis broyées avec un minimum d'eau dans un mixeur type "Tunmix". Aucun réducteur a été rajouté, le jus de cresson s'oxydant très peu.

Le jus exprimé, une première centrifugation à faible vitesse (8 000 tours/minutes) pendant vingt minutes élimine le plus gros des constituants cellulaires et les chloroplastes.

Le jus clarifié est alors porté dans une ultra-centrifugeuse Spinco* modèle L. Une première centrifugation à I5 000 tours/minutes pendant I/2 heure permet une clarification meilleure du jus ; le culot est éliminé et le surnageant récen-

* Rotor 30

..../....



trifugé à 30 000 tours/minute pendant une heure.
On élimine alors le surnageant final qui ne contient aucune particule infectieuse.

Le culot, est repris par de l'eau distillée, remis en solution et centrifugé à faible vitesse pour éliminer l'insoluble. Parti d'un jus de 500 cc nous avons repris le culot terminal dans IO cc d'eau distillée, ce qui correspond donc, à une concentration de 50 fois. La solution finale, d'abord limpide s'est ensuite troublée, nous avons laissé la précipitation se faire pendant six heures à la température ambiante. Une nouvelle et dernière centrifugation nous a donné un surnageant clair enfin stable, que nous avons observé au microscope électronique suivant la méthode à l'acide phosphotungstique, et inoculé par ailleurs avec succès à des chenopodium .

Ce jus contenait une suspension uniforme de particules pseudo-sphériques ayant tendance à s'aggréger, d'abord en ligne, puis dans les deux dimensions. Ces particules, de diamètre moyen 27 mμ. peuvent être considérées comme étant le virus lui-même, un jus sain de cresson centrifugé de la même façon n'ayant montré aucune particule.

-:-:-:-:-:-;-:-

ROLE DES TRAITEMENTS APHICIDES DANS LA LUTTE CONTRE LA MOSAÏQUE DE LA LAITUE EN CULTURE MARAICHERE

J. M A R R O U*

Le virus de la mosaïque de la laitue est transmis par la graine, de 0,5 à 6 pour cent de celles-ci sont contaminées dans les lots de semence mis au commerce. Dès la levée, il existe dans les cultures des foyers de contamination primaire à partir desquels les pucerons (Myzus persicae et dans une certaine mesure Maerosiphum euphorbiae) disséminent la maladie aux laitues voisines. L'utilisation de graines indemnes de virus, en supprimant les sources de virus à l'intérieur du champ, abaisse fortement les risques d'attaque. Il n'existe pas encore en France de telles semences ; la seule méthode de lutte consiste à limiter les contaminations en prenant des mesures prophylactiques simples : isolement relatif des parcelles, épuration constante des cultures, destruction des pucerons vecteurs du virus. Les deux premières sont souvent négligées, seule la troisième a la faveur de certains maraichers ; malheureusement le choix des pesticides ou du calendrier de traitement n'est pas toujours judicieux et les résultats sont peu encourageants. En 1960 des essais de traitements aphicides ont été entrepris à Versailles sur des cultures de laitue pour voir s'il était possible de réduire les pertes dûes à la Mosaïque de la laitue.
Le rôle des traitements aphicides dans la lutte contre les maladies à virus des plantes a été étudié par de nombreux chercheurs, les résultats obtenus ont souvent été contradictoires. (Bonnemaison PTI n° 134), la limitation des pertes n'a été possible que dans quelques cas particuliers. En culture maraichère les fortes densités de plantation, la culture échelonnée des mêmes plantes tout au long de l'année facilitent la conservation des virus et de leurs insectes vecteurs. Il était intéresant d'étudier dans ces conditions l'efficacité des traitements aphicides sur la dissémination d'un virus transmis par les pucerons.

.../...

---

* Avec la collaboration technique de Monsieur GALLET.
L'analyse statistique des résultats est dûe à Monsieur TRUKENBOLZ et Monsieur HERVE.

.....

I. CHOIX DES PRODUITS APHICIDES ESSAYES :

En culture maraichère le choix des insecticides est délicat, les produits utilisés doivent être très actifs sur les pucerons et à faible persistance pour ne pas laisser de résidus toxiques pour l'homme sur les légumes, surtout lorsque ceux-ci sont consommés sans cuisson préalable. Les trois produits suivants ont été utilisés dans ces essais : Phosdrine, Isdan et Nicotine.

a) La Phosdrine (2 carbométhoxy 1 méthylvinyldiméthylphosphate) présente des caractéristiques intéressantes pour la culture maraichère. Cet insecticide endothérapique est actif sur les pucerons et sa persistance dans la plante, sous une forme toxique pour l'homme est éphémère. Vingt quatre heures après application de 15 à 25 gr. de matière active à l'hectare, il reste moins de I ppm de produit toxique dans les tissus des végétaux traités. Cet insecticide, du fait de sa faible persistance, est autorisé en culture maraichère, à condition d'arrêter les traitements 7 jours avant la récolte. La toxicité du produit pour l'homme est supérieure à celle du parathion (DL 50 3mg/kg pour la souris ♀), (Les insecticides organophosphorés MR. SCHUFFON Jour. Franç. d'études consacrées aux insecticides Agricoles Paris Nov. I960).

b) L'Isolan (1 Isopropyl, 3, méthylpyrazolyldiméthylcarbamate) est un aphicide spécifique agissant par contact et ingestion ; il est sans éffet sur les Syrphes et les larves de coccinelle prédateurs des pucerons. Ce carbamate est très toxique pour l'homme (DL 50 I2 à I8 mg/kg. pour la souris), seules les préparations à faible concentration en matière active sont autorisées en culture légumière. Les traitements doivent être interrompus IO jours avant la récolte.

c) La Nicotine est un des plus anciens aphicides utilisés ; elle agit par contact, ingestion et inhalation et a des propriétés ovides. Bien que très toxique (la dose léthale est pour le chien de 1 mg/kg) sa faible rémanence la rend particulièrement intéressante en culture légumière, les traitements doivent être interrompus 8 jours avant la récolte.

Les trois insecticides ont été utilisés aux doses suivantes :

	Teneur en matière active du produit	Dose d'emploi
Phosdrine	5 %	0,1 %
Isolan	6 %	0,1 %
Nicotine	40 %	0,2 %

.../...

Les solutions insecticides ont été pulvérisées, à raison de I litre pour dix mètres carrés, sur les parcelles d'essais à l'aide d'un pulvérisateur à main (Bambi. Tecalemit).

2. CALENDRIER DE TRAITEMENT :

Les traitements ont commencé dès la levée des plantules, au stade cotylédonnaire et ont été répétés tous les huit jours jusqu'à la formation de la pomme. Sept traitements ont été nécessaires du 2 Mai au I3 Juin. Pour permettre une étude, par la Station de Phytopharmacie, des résidus toxiques laissés sur les laitues, il n'a pas été tenu compte des prescriptions officielles sur les dates limites de traitement dans toutes les parcelles : ils ont été arrêtés huit jours avant la récolte.

3. DISPOSITIF EXPERIMENTAL :

L'essai a été réalisé à Versailles, dans un terrain homogéne et irrigable. Les parcelles ont été disposées en carré latin. Chacune d'elles comportait 36 plantes et était entourée par un rang de laitues hors-essai. Les laitues de la variété Trocadéro à graines noires ont été semées en place (I3 Avril) sur des rangs espacés de 0,33 m, puis éclaircies sur le rang de telle sorte qu'il ne reste que trois plantes au mètre linéaire (24 Mai).

4. NOTATIONS EN COURS DE CULTURE :

Trois sondages, le 23 et 30 Mai , puis le 3 Juin ont permis de contrôler la présence et l'évolution de la population aphidienne. Dans chaque parcelle IO plantes choisies au hasard ont été soigneusement observées pour y déceler la présence ou l'absence de pucerons isolés ou en colonie. Ces comptages ont été faits quelques heures avant un nouveau traitement. Le résultat des sondages est réporté dans le tableau suivant

	Résultats enregistrés par colonnes				% de plantes hébergeant des pucerons
Témoin	34	24	I6	I2	7,1 %
Nicotine	9	6	IO	II	3 %
Phosdrine	II	7	I4	IO	3,5 %
Isolan	I3	7	6	IO	3 %

Les laitues de l'essai n'ont pas été contaminées par de nombreux pucerons, les traitements effectués ont empêché la formation de colonies importantes ; seules les parcelles témoins en n'ont hébergé quelques-unes.

.../...

5 NOTATION A LA RECOLTE

La récolte a eu lieu en deux fois, à huit jours d'intervalle (20 et 27 Juin) dans chaque parcelle, au moment de la cueillette, le nombre de plantes présentant des symptômes de mosaïque a été noté et la proportion de plantes malades a été calculé par rapport à la récolte totale.

Produit colonne	Témoin	Phosdrine	Nicotine	Isolan
I	27,7 %	32 %	25,7 %	II,I %
II	4I,3 %	27,7 %	25,6 %	3I,5 %
III	45,I %	I5,I %	I3,8 %	I6,6 %
IV	I3,8 %	IO,5 %	I3,8 %	I2,4 %
Moyenne	3I,9 %	22,3 %	I9,7 %	I7,9 %
Importance de la maladie	IOO	69	62,5	56

La récolte de chaque parcelle a été pesée dans son ensemble (Tableau I) et par qualité (Tableau II) : premier et second choix. La catégorie premier choix comportait toutes les laitues commercialisables, c'est à dire munies d'une "pomme" bien formée et ne présentant pas de symptômes graves de mosaïque. Le second choix comportait les laitues non pommées et généralement fortement contaminées par le virus.

Tableau I
Poids total de la récolte dans chaque parcelle

Colonne	Poids total de la récolte / nombre de plantes récoltées			
	Témoin	Phosdrine	Nicotine	Isolan
I	9 000 / 36	7 500 / 34	7 300 / 35	7 700 / 36
II	6 600 / 29	6 400 / 36	7 I00 / 39	7 000 / 38

.../...

III	4 700 / 31	5 750 / 33	6 200 / 36	7 400 / 36
IV	5 900 / 36	6 900 / 38	6 700 / 36	5 800 / 32
Moyenne rapportée au témoin pris égale à 100	100	98	97,6	104,3

Tableau II

Poids de la récolte de laitue premier choix dans chaque parcelle				
Colonne	Poids de laitues 1er choix récoltées / nombre de laitues 1er choix récoltées			
	Témoin	Phosdrine	Nicotine	Isolan
I	6 800 / 26	5 300 / 23	6 640 / 26	7 200 / 32
II	3 800 / 17	5 700 / 26	6 300 / 29	6 600 / 26
III	2 900 / 17	5 600 / 28	5 500 / 31	6 900 / 36
IV	5 300 / 31	6 700 / 34	6 100 / 31	5 300 / 28

CONCLUSION :

Les parcelles traitées ont été moins fortement contaminées par les virus que les parcelles témoins. En évaluant l'importance de la maladie en fonction du nombre de laitues malades dans chaque parcelle (Tableau I) et en représentant par 100 l'importance de la maladie dans les parcelles témoins (moyenne des résultats obtenus dans les quatre répétitions), on peut la représenter par 69 pour la Phosdrine, 62,5 pour la

.../...

Nicotine, 56 pour l'Isolan.

Les traitements aphicides en entravant l'activité des pucerons vecteurs, ont limité les pertes dues au virus de la Mosaïque de la laitue. Si le poids total de la récolte a été peu influencé par les traitements (Tableau II) la qualité du produit récolté a été nettement augmentée. Les parcelles traitées ont donné des laitues plus grosses et de meilleur aspect que les parcelles témoins. La proportion de laitues premier choix, c'est à dire de laitues commercialisables, récoltées dans les différentes parcelles est reporté dans le tableau III

Tableau III

Propotion de laitues premier choix récoltées dans chaque parcelle. (Le poids de la récolte totale à été pris égale à 100 dans chaque cas).

Colonne	Témoin	Phosdrine	Nicotine	Isolan
I	75,5 %	70,7 %	9I %	93,5 %
II	57,6 %	89, %	88,7 %	94,3 %
III	6I,7 %	97,2 %	88,7 %	93,2 %
IV	89,8 %	97,I %	9I %	9I,4 %
Moyenne	7I,7 %	87,8 %	89,9 %	93,2 %

La proportion de laitues premier choix est toujours plus élevée dans les parcelles traitées (90,3 % en moyenne) que chez les témoins (7I,7 % en moyenne).Ces différences étaient statistiquement valables.

Il n'est pas possible par contre de mettre en évidence une différence statistiquement significative entre les produits aphicides essayés.

Des essais plus importants, placés dans des conditions de contamination plus sévères et controlées de façon plus précise (piègeage . de pucerons) sont prévus pour le printemps et l'été prochain. Cette étude sera complètée par celle de Monsieur VIEL et Mademoiselle de LAVAUR de la Station de Phyto-

..../....

pharmacie qui, cette année, ont mis au point une méthode de dosage des résidus toxiques sur les feuilles de salades récoltées dans ce premier essai.

Les conclusions tirées des essais en champ permettant de juger l'intérêt agronomique des traitements aphicides pour les cultures maraichères de laitue ; le résultat de l'étude toxicologique indiquera s'il est possible de conseiller leur application.

-:-:-:-:-:-:-:-

ACTION DE DEUX VIRUS APPARENTES AU VIRUS I DU CONCOMBRE SUR UN CERTAIN NOMBRE D'HOTES CARACTERISTIQUES

D. S P I R E

Nous avons repris l'étude des souches de virus de la mosaïque du concombre en nous attachant à deux types particulièrement différents :

Le type commun rencontré couramment dans les cultures de concombre et très actif sur cucurbitacées et un autre type, issu de chrysanthème sur lequel il provoque de petites lésions jaunes, et un rabougrissement, mais qui a peu d'action sur le concombre.

Ces deux virus apparentés présentent quelques différences dans leur gamme d'hôtes.

I. ETUDE SUR SOLANEES :

Nous avons élargi les résultats obtenus en 1959, étudiant les réactions d'un certain nombre d'hôtes nouveaux. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

HOTE	Souche issue du Concombre	Souche issue du Chrysanthème
Nicotiana tabacum	M., Ds.	M., Ds., E.
Nicotiana glutinosa	M., Ds., ff.	M., Ds., E.
Nicotiana Rustica	m.,	m., E.
Nicotiana glauca	M. Ds., ff.	m.
N. hangsdorfii	M.	O
N. Sanderae	M., Ds.	O
N. Attenuata	M., Ds.	ff. très prononcé
N. Undulata	M., Ds. légère.	m., ff.
N. Sylvestris	M.	O
Petunia hybrida	M.	M., quelques E.
Physalis floridana	m., St.	M., Ds., St.
Datura stramonium	m., plages jaunes diffuses	M., E., Ds.

..../....

LEGENDE DES ABREVIATIONS

M. = Mosaïque
m. = Mosaïque légère
Ds. = Déformations
E. = Enations
ff. = Effilement
St. = Rabougrissement.

La différentiation du virus issu de chrysanthème se fait aisément à la vue des "énations" sur Nicotiana glutinosa ; N. tabacum et N. rustica. Le Physalis et le Datura présentent aussi une réaction très caractéristique.

Pour déceler le virus issu du concombre, toutes les Nicotianaes sont utiles, mais il est intéressant de posséder des hôtes à lésions locales dont les réactions sont plus rapides.

2. RECHERCHE D'HOTES DIFFERENTIELS

Les réactions locales des Chenopoduim sont étudiées dans le tableau suivant :

HOTES	souche issue du concombre	souche issue du chrysanthème
Ch. Quinoa	Nombreuses lésions jaunes devenant nécrotiques.	Quelques lésions jaunes devenant nécrotiques.
Ch. Murale	lésions locales nécrotiques blanches	petites lésions locales nécrotiques blanches
Ch. Album	petites lésions chlorotiques en pointes d'épingles.	petites lésions chlorotiques en pointes d'épingles
Ch. Amaranticolor	Lésions locales nécrotiques bordées de rouge.	Quelques lésions locales blanches puis nécrotiques.

Seul le Chenopodium amaranticolor peut différentier dans une certaine mesure les deux souches.

Deux autres hôtes donnent des réactions différencielles.

Celosia Cristata réagit au virus issu du chrysanthème par des taches rouges en anneaux, alors que le virus issu du concombre donne un rougissement uniforme des feuilles.

.../...

Tetragonia expansa est sans réaction vis-à-vis du virus issu du chrysanthème, mais donne avec le virus issu du concombre de larges lésions jaunes légèrement diffuses.

-:-:-:-:-:-:-:-

OBSERVATIONS FAITES DANS LA REGION DE MORLAIX SUR UNE MALADIE A VIRUS DES CHOUX-FLEURS

D. S P I R E

Une maladie à virus a provoqué cette année de sérieux dégâts dans les cultures de choux-fleurs de la région de Morlaix. L'extension de plus en plus importante de cette virose et les conséquences économiques qui peuvent en résulter, nous ont amené à visiter cette région d'où nous tirons quelques observations.

DETERMINATION DU VIRUS, CAUSE DE LA MALADIE :

Un petit nombre de virus attaque le chou-fleur. On peut citer, parmi les virus de crucifères, la mosaïque jaune du Navet, et le "crinckle" du Navet qui ne donnent que des réactions assez faibles quoique généralisées dans toute la plante. Ces deux virus sont transmis par insectes broyeurs. Leur extension est limitée.

La quasi totalité des autres virus ont été classés en deux catégories : les virus du groupe A, et les virus du groupe B, ceux qui se rattachent à la mosaïque du chou-fleur (B) , et ceux qui se rattachent aux taches noires du chou (A). Les deux groupes étant d'ailleurs souvent associés en complexe sur le chou-fleur. Différents de la jaunisse du Navet et du "crinckle" à cause de leur transmissibilité par pucerons. Les virus des deux groupes A et B s'opposent par leur forme au microscope électronique (batonnets pour A, particules sphériques pour B), et par la gamme d'hôtes sur lesquels on peut les indexer. Si les virus du groupe B sont strictement limités aux crucifères, ceux du groupe A réagissent sur le tabac en produisant des lésions nécrotiques caractéristiques.

Des échantillons que nous avons analysés, nous n'avons pas obtenu de lésions locales sur tabac. Par contre, le navet a réagi fortement à des inoculations, soit mécaniques, soit par pucerons ; quinze jours après l'infection cette plante a présenté une forte mosaïque, puis un rabougrissement prononcé amenant rapidement la mort. Ceci est caractéristique d'une souche virulente d'un virus du groupe B que nous pouvons identifier au virus de la mosaïque du chou-fleur. Ceci n'exclue pas cependant la présence de virus des taches noires du chou qui existe, peut être en certains endroits, mais qui du fait de sa faible dissémination doit être plus rare.

.../...

SYMPTÔMES OBSERVES EN CULTURE :

Les symptômes de cette maladie sont très accentués sur le chou-fleur en culture. Les débuts de l'infection s'annoncent par de petites lésions chlorotiques ou jaunes pâles, difficiles à déceler, et rapidement suivies d'un éclaircissement des nervures de la feuille. La plante peut être atteinte dans son ensemble ou partiellement sur une ou plusieurs feuilles.

La maladie se poursuit par un "Vein banding" très prononcé, aussi bien sur les feuilles jeunes que sur les anciennes. Autour des zones vert-foncé qui bordent les nervures, des nécroses brunes vont ensuite apparaitre. Elles se généralisent ensuite à toute la feuille produisant ainsi des taches noires sur les feuilles agées qui finissent par tomber. Il y a ainsi une défoliation de bas en haut de la plante qui nuit au développement final de l'inflorescence. De plus, la plante reste souvent chétive, surtout si elle s'est trouvée infectée au début de sa croissance. L'inflorescence est très petite ou même n'apparait pas. Un champ contaminé à 90 % peut ne produire qu'un tiers de la récolte prévu et ceci sous forme de têtes de choux-fleurs de faible taille.

DISSEMINATION DE LA MALADIE ET CONTAMINATION :

Le virus de la mosaïque du chou-fleur est transmissible par pucerons sur le mode non persistant .

Les dégâts causés par cette maladie se repartissent dans une zone d'une vingtaine de kilomètres de par et d'autre de Morlaix. Dans cette zone deux régions caractéristiques, toutes deux productrices de choux-fleurs sont à distinguer : la bande côtière et la région intérieure.

La zone la plus touchée est certainement la première, la contamination y est très importante et la dissémination rapide. La maladie aurait eu son origine, aux environs du port de Roscof. Il est possible que des importations de plants de Grande-Bretagne, région fortement contaminée de 1948 à 1952 aient pu contribuer à ce développement soudain. Il est plus probable de penser que cette maladie, préexistante en France a pris une extension brusque à la suite des conditions climatiques particulières de 1958 et 1959. en Bretagne. Le temps y a été particulièrement sec en été, et les hivers peu rigoureux, ce qui a permis une pullulation plus grande des pucerons.

La maladie présente, l'élément vecteur important, rien ne s'opposait plus à une grande extension de la virose. En effet, la contamination est très forte dans cette région côtière bretonne pour de nombreuses raisons toutes liées au mode de culture :

- Les exploitations sont très morcelées, avec de faibles surfaces, imbriquées les unes dans les autres et très rapprochées.

.../...

- C'est une région de culture légumière intensive, où Artichaut et Chou-fleur sont les seules plantes cultivées. Il n'y a donc pas d'assolement.

- La culture du chou-fleur se fait suivant toute une gamme de variétés, précoces, semi-tardives, tardives, si bien qu'il existe toujours à proximité d'un jeune semis une culture ancienne proche de la récolte et source de nouvelles contaminations.

- Les mauvaises pratiques culturales telle que la culture des porte -graines sur le terrain même où l'on fait les semis, l'abandon de la plante sur place après la récolte au lieu d'un enfouissage rapide, sont de nature à accroitre encore le processus de contamination.

Il est inutile de rechercher parmi des crucifères d'aventices peu fréquentes ou dans les quelques cultures de choux cultivés en jardin, l'élément de conservation et le réservoir du virus. La masse même des choux-fleurs, produits de façon continue tout au long de l'année est la source essentielle de renouvellement d'éléments pathogènes d'une année sur l'autre.

Ceci peut être d'ailleurs illustré par l'exemple suivant :

Au large de Santec, village en pleine zone contaminée, se trouve une île dans laquelle on cultive du chou-fleur. Un kilomètre sépare ces cultures de la zône infectée, le pourcentage des plantes malades dans cette île ne dépasse pas IO %, alors que sur la côte il est de 90 à IOO %. Cela montre bien que malgré l'introduction de quelques plants infectés, la dissémination est pratiquement nulle et qu'un bon isolement suffit à réduire considérablement les effets de la contamination.

La région intérieure, autour de Morlaix, St Pol de Léon est beaucoup moins atteinte. Le mode de culture en est certainement la cause. En effet, c'est une région de plus grandes propriétés. La culture du chou-fleur y est moins intensive. Les parcelles sont moins morcelées, plus distantes et il existe une rotation de cultures comprenant des céréales. Cela rompt le cycle de dissémination et permet une contamination moindre. Néanmoins le danger persiste. Il existe une sorte de rivalité entre les producteurs de la côte et ceux de l'intérieur, qui empêche en partie les échanges de plants. Ceux de la côte prétendent avoir la meilleure graine, les autres de meilleurs terrains et des méthodes de cultures plus appropriées. Néanmoins, on voit certains cultivateurs de l'intérieur aller se procurer à Roscof un plant issu de meilleures graines et introduire ainsi une source de contamination importante dans leurs champs. De ces nouveaux foyers, la maladie s'étend avec cependant moins de violence que dans une région purement légumière. On peut dire que la moyenne des plantes atteintes dans cette région est d'environ IO % et ceci d'ailleurs sous forme de taches dans les champs.

.../...

En ce qui concerne les méthodes de luttes, il faut envisager :

I°) de séparer la production du plant de celle de la grande culture. Les semis devraient dans la mesure du possible, s'effectuer en dehors de la zone contaminée. Les îles au large de Roscof, ou la région intérieure moins contaminée pourraient servir de lieu pour ces pépinières qui devraient être de toute façon isolées le plus possible des cultures, protégées par des barrières (céréales par exemple) et traitées aux insecticides systémiques. Toutes ces précautions éviteraient des contaminations précoces. Elles seraient complétées par un tri efficace au moment du repiquage pour ôter les plants présentant déjà des symptômes.

2°) un meilleur équilibre des fumures. Il y aurait, en particulier intérêt à diminuer la teneur en azote qui donne un effet de synergie avec la maladie pour en augmenter les symptômes.

3°) des essais de variétés à cycle rapide. La plupart des choux-fleurs cultivés sont des variétés à long développement (broccolis) avec parfois onze mois de végétation dont trois mois d'hiver. Ces variétés devraient être remplacées par des choux-fleurs qui semés au printemps permettent une récolte en 5 mois.

-:-:-:-:-:-

LE CONTROLE DE L'ETAT SANITAIRE DES PLANTS ET GREFFONS

P. C O R N U E T.

I. BUT DU CONTROLE SANITAIRE :

Le controle de l'état sanitaire des plants et greffons a pour but d'aider les pépiniéristes, les producteurs de plants et les agriculteurs utilisateurs à se défendre contre les maladies et les parasites. La protection pouvant s'applicuer à éviter l'introduction des maladies n'existant pas dans le pays intéressé, à l'imiter la dissémination des parasites localisés, à améliorer la rentabilité d'une culture par l'utilisation de plants sains plus productifs.

Il est bien évident que la matériel végétal doit être sain et cela pour de multiplies raisons. L'augmentation de la production individuelle est un premier point qui ne manque pas d'importance quand on sait que certaines maladies à virus sont généralisées et affectent l'ensemble de certaines productions végétales. Il y a quelques années, le virus X, infectait toutes les variétés de pomme de terre cultivées aux U.S.A et un grand nombre de variétés européennes; on sait aujourd'hui qu'il était responsable d'une perte de 10 % de la production mondiale. Les maladies qui atteignent un tel taux de généralisation présentent souvent des symptômes faibles et le contrôle en sera d'autant plus délicat, d'autant plus nécessaire.

L'usage de plants sains sera aussi d'une grande importance dans la lutte contre les maladies à dissémination lente spécialisées à une espèce et n'ayant donc pas d'hôte alternatif pour assurer leur maintien en dehors de la culture parasitée. Un plant de fraisier atteint du coeur rouge (Phytophtora fragariae) peut être à l'origine du dépérissement de toute une culture et bientôt de toute une région. Une telle spécialisation n'est d'ailleurs pas nécessaire pour rendre désastreuse la dissémination d'une maladie même banale, le Verticillium Albo-Atrum agent des flétrissements, peut être amené par exemple par un plant de houblon et interdire la culture de fraisier, framboisier, pomme de terre et nombreuses autres cultures.

Enfin il n'est pas besoin d'insister sur le danger que constitue l'introduction d'une maladie sur un matériel végétal non adapté. Si le virus de la Tristeza des citrus implantait dans le bassin méditarranéen dont les plantations sont constituées en majeure partie par des porte-greffes très sensibles, il causerait un véritable désastre.

Il faut donc que le matériel végétal produit et vendu pour l'établissement des cultures, soit sain, et pour cela il faut qu'il soit controlé. Nous entendrons ce mot non pas dans un sens policier, mais en tant qu'application des méthodes permettant d'avoir une connaissance aussi précise que possible de l'état sanitaire et par là facilitant une éventuelle discrimination.

Le simple examen visuel peut convenir pour certaines maladies cryptogamiques ou bactériennes, les tubercules de pomme de terre atteints de Fusariose, d'Oospora pustulans, de Rhizoctone violet du Erwinia phyt ophthora , agent de la jambe noire, peuvent être décelés par un examen attentif. Les conditions de cet examen sont primordiales pour la valeur du contrôle ; s'il s'agit d'un prélèvement partiel dans un sac, le jugement sera imprécis, par contre s'il s'agit d'un examen au germoir dans les clayettes, contenant des tubercules germées, on pourra plus facilement repérer les plantes infectées, le seul aspect d'une germination peu vigoureuse ou fileuse permettant déjà de douter de l'état sanitaire de certains tubercules.

Le diagnostic du virus du "bois caoutchouc" sur variétés sensibles, en pépinière, représente déjà un stade plus délicat, le controleur devant palper et aprécier la souplesse du bois de chacun des jeunes arbres de la pépinière ; du moins cette maladie aura l'avantage de pouvoir être diagnostiquée tout au long de l'année, ce ne sera pas le cas du virus de la psorose des Citrus dont les manifestations foliacées sont non seulement difficiles à voir, mais sont extrêmement fugaces, et limitées à une quinzaine de jours par an.

On peut dire sans exagération que la majeure partie des maladies à virus sont indiscernables sur le seul aspect des tubercules, bulbes, plants ou greffons défoliés, c'est à dire dans l'état où le matériel végétatif se trouve lorsqu'il est commercialisé.

Même sur les plantes placées dans les meilleures conditions d'extériorisations, les possibilités de détecter les maladies par un simple examen visuel sont très limitées ; il suffit de songer aux virus que l'on découvre de jour en jour. Nous avons cultivé jusqu'en 1951 la variété de pomme de terre Bintje entièrement infectée par le virus S, sans avoir le moindre doute sur son état sanitaire.

Pour faciliter l'extériorisation des symptômes et par là les possibilités d'épuration, on a depuis longtemps imaginé des méthodes de cultures particulières, la multiplication généalogique en est un exemple. En conservant tous les tubercules d'une touffe de pomme de terre et en les plantant l'année suivante les uns à la suite des autres; on constitue une famille dont l'uniformité de végétation permet de faire des comparaisons avec les autres familles et de révéler des déficiences qui n'auraient pu l'être à la seule comparaison d'un pied par rapport aux autres.

La plantation de fraisier en blocs de 4 pieds mères permet aussi de mieux repérer les plants infectés, et par l'élimination du bloc entier, déliniter une éventuelle dissémination.

.../...

Ces méthodes ont rendu des services appréciables, mais aujourd'hui on sait qu'elles sont insuffisantes pour reconnaitre certains parasites ; pour la plupart des maladies à virus, notamment il est indispensable de posséder des méthodes de diagnostic particulières.

II. INDEXAGE ET GUERISON :

Nous n'entrerons pas dans le détail des méthodes de diagnostic ; pour un même parasite elles peuvent être très diverses, leur choix dépend du but à atteindre ; s'il agit de plante qui sera par le jeu de la multiplication généalogique à l'origine d'une importance descendance, les tests les plus fins, les plus précis devront être appliqués. A Versailles, les 250 pieds-mères de Fraisier qui chaque année sont l'origine d'une dizaine de millions de plants filles vendus avec la vignette de contrôle officiel subissent un premier indexage sur le Fragaria vesca, hôte hypersensible en utilisant le transfert du virus par les pucerons vecteurs, un deuxième indexage en utilisant la greffe de feuille ou de filet, une mise en végétation ralentie et observations pendant un an pour éliminer la panachure printanière (instabilité génétique), enfin une désinsectisation du plant spécialement orienté contre la tarsonème.

Si par contre il s'agit d'évaluer l'état sanitaire d'un lot au moment de sa commercialisation, des méthodes rapides, moins précises peuvent être d'une grande valeur, la recoloration des germes de pomme de terre après un séjour à l'obscurité est une des méthodes les plus simples et les plus efficaces pour éliminer le virus Y. La méthode de sérologie est largement utilisée en France pour diagnostiquer les virus de la pomme de terre ; toutes les têtes de famille de sélection généalogique sont indexées trois années de suite par cette méthode, ces 50.000 tests effectués chaque année ont permis d'éliminer complètement les virus X, Y, S, et M.

Le contrôle de l'état sanitaire au sens large du terme peut être facilité par l'usage des méthodes curatives ; il est plus facile de faire une fumigation sur une tonne de fruit que d'y rechercher un seul petit insecte. Une désinfection superficielle des bulbes de tulipe contre le botrytis tulipae, un traitement à l'eau chaude contre la fusariose du Glaïeul, les nématodes de la jacinthe et du muguet sont des méthodes qui se perfectionnent et seront bientôt courantes. L'étude de l'action du rayonnement permettra peut être de donner à ce type de méthode un développement futur. Même contre les maladies à virus il existe aujourd'hui des méthodes curatives qui permettent de recrées des clones sains parmi certaines espèces végétales.

La culture de méristème utilisant l'absence de virus dans la pointe apicale des bourgeons a permis d'obtenir des clones sains de pomme de terre et de Dahlia. La thermothérapie est largement utilisée contre les viroses des pêchers, fraisiers, framboisiers, figuiers, vigne, rosier, oeillet, chrysanthème,

.../...

Elle est même pratiquée industriellement contre les virus de la Canne à sucre, par le traitement massif des boutures avant plantation. Enfin, la culture d'embryons nucellaires chez les Citrus constitue encore une technique qui s'apparente aux méthodes curatives; mais toutes techniques de diagnostic ou curatives n'ont de réelle valeur que si elles sont inclues dans une organisation ayant pour but la lutte contre des maladies bien déterminées, en utilisant pour celà un ensemble de moyens. C'est cet aspect d'un contrôle organisé que nous allons maintenant essayer de traîter; nous étudierons deux types d'organisation de contrôle, les quarantaines et les sélections sanitaires.

IV - ETABLISSEMENT D'UNE QUARANTAINE -

Lorsqu'un pays veut éviter l'introduction d'un parasite qui risquerait de compromettre la production d'une culture importante pour son économie, il interdit purement et simplement l'importation de toutes les espèces végétales susceptibles d'héberger le dit parasite ou ses vecteurs.

C'est ainsi que certains pays interdisent toute importation de Châtaignes sous toutes ses formes pour éviter l'Endothia parasitica, des Chênes pour éviter le Chalara quercinia, des Peupliers, pour éviter le Septoria musina, de toutes les Aurantiacées pour éviter les viroses des Citrus et notamment la Tristiza.

Cependant, si le pays en question est particulièrement intéressé par la dite culture, il lui sera nécessaire de chercher à l'améliorer tôt ou tard, les services de recherches privés ou officiels auront besoin pour leurs études d'introduire des plants qui risquent d'être dangereux, il faudra donc établir une "quarantaine" pour juger exactement de l'état sanitaire de l'introduction.

Un des exemples les plus remarquables nous est donné par la quarantaine des Citrus, organisée aux Etats-Unis. En premier lieu, toute plante vivante quelle qu'elle soit, ne peut parvenir aux U.S.A. que si le colis comporte en guise d'étiquette, une autorisation d'introduction qui achemine automatiquement la plante vers un lieu de quarantaine. Pour les Citrus, cette quarantaine s'effectue en plusieurs temps. A leur arrivée à la Station Glenn Dale, dans le Maryland, les plantes sont désinsectisées et mises en culture, sous cages grillagées ou en serres protégées contre les pucerons, elles seront inspectées pendant 2 ans avant d'être touchées. Après ce stage, chaque introduction constitue un clone et sera multiplié et envoyé à l'Université de Californie pour y être testé contre les principaux virus. Cet indexage par greffe s'effectue sur 6 espèces différentes afin d'être assuré de détecter tous les virus connus et même d'avoir quelque chance de mettre en évidence un virus latent inconnu. Des témoins de plantes indexes non greffées, sont placés à côté des tests pour juger des symptômes les plus légers. Après 4 mois, on taille l'index au-dessus du point de greffe et l'on observe les symptômes sur les repousses qui extériorisent en général des symptômes plus forts. Ce travail durera plusieurs années, car les tests de réponse à certaines maladies à virus des agrumes sont très longs. La plante a été reconnue indemne de toute affection connue, mais elle peut être porteuse d'une affection

.../...

inconnue. Aussi pour éviter qu'une telle éventualité se produise et soit à l'origine de la contamination des cultures commerciales, on greffera l'introduction sur 19 combinaisons, représentant les assemblages les plus utilisés aux U. S. A., 3 arbres de chaque combinaison soit un total de 57 arbres placés dans un bac cimenté sous cage grillagée serviront à tester l'éventuel effet de la présence aux U.S.A. d'une seule introduction.

Ce n'est que ce dernier test mené trois ans de suite est concluant que la plante importée aura la liberté.

- Ces raffinements de quarantaine ne sont nullement exagérés en comparaison de la catastrophe que peut amener le développement d'une nouvelle maladie sur une culture aussi importante que celle des agrumes aux U.S.A.

V - LA MULTIPLICATION DES PLANTS SAINS ET LES SELECTIONS SANITAIRES.

Une fois guéri, indexé ou contrôlé en quarantaine, il faudra effectuer une multiplication à l'abri des contaminations pour pouvoir livrer en grande culture un lot important de plants sains. Cette multiplication pour être valable, doit suivre de règles techniques strictes; ainsi on contrôle non seulement l'état intrinsèque du plant origine, mais aussi la manière dont a été produit la descendance végétale et par là, on apporte des garanties très sérieuses contre les maladies les plus pernicieuses et les plus difficilement diagnostiquables.

Un système de sélection sanitaire doit tenir compte, pour le choix et le mode d'application d'une technique, non seulement de la connaissance exacte des maladies qu'elle doit combattre et notamment des modes de dissémination, mais encore de l'aspect économique, le système proposé ne devant pas être plus onéreux que le mal à combattre et surtout des possibilités humaines de mise en pratique.

a) Exemples de modalités techniques.

S'il s'agit de lutter contre une maladie se conservant dans le sol (Red core du Fraisier, viroses du Court-noué de la Vigne) ou d'une maladie à dissémination rapide, utilisant un vecteur aérien (virus d'Enroulement de la Pomme de terre disséminé, par puceron, ou Strolbur disséminé par cicadelle): Si le parasite est spécialisé à une espèce (virus du figuier), ou très ubiquiste (virus 1 du Concombre), si la plante-hôte est cultivée partout (Pomme de terre) ou si la culture est localisée (Tulipe, Fraisier), les modalités techniques de sélection sanitaire seront très différentes.

Une comparaison des principes utilisés pour la lutte contre les virus de la Pomme de terre et du Fraisier nous donne un exemple de cette diversité bien que dans les deux cas, il s'agisse de maladies à virus disséminés par puceron.

L'ampleur ou la vitesse de dissémination est fonction de trois facteurs principaux :

1°) la présence et l'importance des sources de virus au voisinage du champ considéré;

2°) L'activité des vecteurs;

3°) La sensibilité de la plante.

.../...

On peut jouer sur chacun de ces facteurs pour limiter la dissémination.

Etudions en premier lieu la présence des sources de virus;

Si les plantes infectées se trouvent à l'intérieur du champ, on effectue une épuration, mais cette pratique n'a que peu de valeur, car lorsque les symptômes sont visibles, il est déjà trop tard, les pucerons ont déjà transmis les virus aux plantes voisines. En sélection sanitaire, on ne devrait d'ailleurs que rarement trouver la source de contamination dans le champ, puisqu'il s'agit de multiplier des plantes déjà testées ou guéries et reconnues saines.

La contamination vient donc le plus souvent de l'extérieur; elle est fréquente dans les cultures voisines de plantes sensibles et chez les hôtes adventices du virus ou de ses vecteurs; le moyen de se préserver de ces foyers consiste à s'en isoler.

Les règles d'isolement sont particulièrement efficaces dans le cas de virus et de vecteurs spécialisés à la plante que l'on peut protéger. Pratiquement, les virus du fraisier sont inféodés au genre Fragaria et le principal vecteur, le Pentatrichopus F. ne se rencontre que sur les Fraisiers et quelques Rosacées sauvages. De sorte que, dans les zones où on ne pratique pas la culture du fraisier, on ne trouve ni virus, ni pucerons; l'isolement est alors efficace à lui seul. Au contraire, dans le cas de la Pomme de terre, les virus de cette plante se rencontrent sur une foule d'hôtes. Leur principal vecteur, le Myzus persicae (puceron du Pêcher) n'est nullement inféodé à la Pomme de terre. Dans ce cas, l'isolement des foyers de contamination est insuffisant, on est obligé d'agir sur le deuxième facteur de dissémination : l'activité des vecteurs.

L'activité des vecteurs est elle-même fonction de quatre facteurs :

1°) Du nombre de pucerons;

2°) De la fréquence de leurs déplacements;

3°) De la facilité avec laquelle ils deviennent infectieux;

4°) Du temps pendant lequel ils restent infectieux.

Ces deux derniers points sont inhérents au virus et à la plante, ils ne sont donc pas susceptibles d'être modifiés; par contre, on peut jouer sur le nombre de pucerons et sur leurs déplacements.

La méthode la plus efficace consiste à soustraire la plante aux vecteurs en la protégeant par des cages de toiles grillagées interdisant l'accès des pucerons. Cette méthode est utilisée à certains stades de la production de plants de fraisiers, mais bien entendu, de telles applications sont très limitées.

On peut aussi utiliser des insecticides, mais à part deux ou trois exemples particuliers, ils ne présentent en général que peu d'intérêt. Un insecticide qui ne tue pas assez rapidement pour empêcher l'insecte de piquer, ne peut empêcher le virus d'être inoculé.

.../...

Un autre moyen de lutte consiste à rechercher des régions où les conditions de milieu sont défavorables au vol et à la multiplication des insectes vecteurs.

Les règles de M. DAVIES sont bien connues, elles sont applicables aux pucerons. On n'observe pas de vol lorsque la température est inférieure à 18° C, le vent supérieur à 9 kilomètres à l'heure, l'hygrométrie supérieure à 70% et le ciel nuageux.

En France, deux zones isoclimatiques se rapprochent le plus de ces conditions : la Bretagne-Finistère et la zone côtière de Dunkerque à Fécamp.

Pour la Pomme de terre, la culture à contre-saison constitue aussi un excellent moyen de lutte. La pullulation maximum des pucerons se plaçant en juin, dès les débuts d'août le taux moyen de pucerons est très faible, des plantes sensibles à ce stade échappent pratiquement aux contaminations.

En résumé la sélection de la Pomme de terre ne peut se faire qua dans des zones particulières, défavorables aux vecteurs, car les règles d'isolement entre cultures saines et contaminées, sont inapplicables;au contraire pour le Fraisier, ces règles sont valables à elles seules, le virus et le vecteur étant spécialisés à cet hôte.

b) Exemple d'aspect économique -

Les virus du Dahlia affectent très gravement cette plante ornementale. Une sélection sanitaire efficace consisterait à séparer les variétés en trois groupes : variétés sains, fréquemment infectées, très infectées et à effectuer une multiplication généalogique séparées pour chacun des groupes; la prise des boutures en serre, devra être faite indépendamment; les boutures seront cultivées en châssis séparées et rangées par tubercule, les cultures en plein air seront divisées par des écrans de maïs, etc...

Par ailleurs, un contrôle sanitaire officiel ne peut être promulgué que si le contrôle variétal est établi. La multiplicité variétale chez une plante ornementale constitue une partie de son attrait commercial, elle ne peut donc être limitée. Un contrôle officiel tenant compte de ces divers facteurs, serait beaucoup trop onéreux pour le but à atteindre; dans un pareil cas, on se limitera à de simples conseils.

c) Exemple d'organisation en fonction des possibilités de mise en pratique.

On peut concevoir une organisation unifiée ou une organisation libérale pour la plupart des sélections sanitaires.

La sélection sanitaire du Fraisier en France a d'abord été organisée sur un mode libéral, les premiers règlements laissent la possibilité aux établissements quels qu'ils soient de rechercher les têtes des familles saines par indexage sur le Fragaria Vesca. Aujourd'hui, un seul organisme le C.T.I.F.L., est responsable de la thermothérapie et du choix des origines de toutes les multiplications de Fraisiers contrôlés en France, les modalités de contrôle sont ainsi unifiées. Si ce système permet une plus grande sécurité sur l'état sanitaire général et allège considérablement le contrôle, il présente certains inconvénients. La centralisation risque d'affecter le choix des clones qui peuvent alors présenter un excès d'uniformité, les mêmes techniciens utilisant les mêmes méthodes auront tendance à égaliser la valeur du matériel. D'ailleurs le seul fait

.../...

de ne distribuer qu'un nombre limité de variétés force la production dans un sens et limite le jeu des concurrences naturelles.

Le contrôle de la sélection sanitaire des Citrus en Californie peut être donné comme un exemple de mode libéral; il s'effectue en plusieurs stades :

a) Sélection préliminaire : les sélectionneurs qui acceptent le contrôle peuvent présenter des arbres comme candidats (âge minimum de 10 ans, exactitude du type, vigueur, forte production, etc...);

b) Inspection préliminaire : la préférence est donnée aux plantations uniformes, l'inspection passe et côte l'arbre selon diverses normes.

c) Inspection approfondie - à l'examen, l'arbre et ses 4 voisins doivent être indemnes de psorose pendant 2 années consécutives. Au cours de cette période, des greffons seront prélevés pour effectuer des tests. L'arbre peut ainsi obtenir après deux ans un certificat, le déclarant indemne de psorose, après 4 ans, indemne de Psorose et de Xyloporose, après 6 ans, indemne de Psorose, Xyloporose et Exocortis. Un nombre maximum de 40 arbres et de 350 greffons par arbre est accordé à chaque sélectionneur.

VI - CONCLUSION -

Dans la majeure partie des cas, on ne pourra préjuger d'un bon état sanitaire des plants et greffons que si l'on a eu connaissance de la valeur des plantes d'origine et de la façon dont a été conduit la multiplication. Le contrôle a posteriori, effectué sur des échantillons en commercialisation devient inutile si les prescriptions de production et de sélection sanitaire ont été appliquées.

En France, les sélections sanitaires de la Pomme de terre et du Fraisier sont des exemples particulièrement brillants de réussite technique. Les études sont en cours pour définir les bases d'organisation similaires pour la Vigne, les agrumes, les framboisiers, certains arbres fruitiers et certains bulbes.

-:-:-